

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 963**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2015.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.06.2012 PCT/EP2012/060948**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.11.2016 WO2012168468**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.06.2012 E 12733436 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.08.2016 EP 2717890**

54 Título: **Células/Cepas Lactobacillus secadas por pulverización y su uso contra Helicobacter pylori**

30 Prioridad:

08.06.2011 EP 11169137

19.10.2011 EP 11185851

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2017

73 Titular/es:

NOVOZYMES A/S (100.0%)

Krogshøjvej 36

2880 Bagsværd, DK

72 Inventor/es:

ARYA, STEFANIE;

GOELLING, DETLEF;

HOLZ, CATERINA y

LANG, CHRISTINE

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 600 963 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).

DESCRIPCIÓN

Células/ Cepas Lactobacillus secadas por pulverización y su uso contra Helicobacter pylori

- 5 [0001] La invención se refiere a cepas de Lactobacillus o células Lactobacillus secadas por pulverización (bacterias de ácido láctico) así como sus usos, particularmente para composiciones farmacéuticas y/o dietéticas, incluyendo un producto farmacéutico o suplemento alimenticio, para el tratamiento y profilaxis de infecciones de Helicobacter pylori a animal y a ser humano.
- 10 [0002] Microorganismos probióticos comprenden células, que muestran efectos ventajosos en cuerpos humanos o animales. Las composiciones probióticas contienen dichos microorganismos. Efectos ventajosos pueden consistir particularmente en el perfeccionamiento de la microflora del tubo digestivo. En la microflora particularmente pueden inhibirse otros microorganismos a través de interacciones inmediatas entre los microorganismos probióticos y los microorganismos no deseados, por interacciones mediadas a causa de inhibiciones del metabolismo del microorganismo no deseado mediante los productos de expresión del microorganismo probiótico, o mediante el refuerzo del sistema inmunitario natural. Generalmente se supone que un mecanismo principal, la colonización competitiva del tracto gastrointestinal, es un elemento eficaz esencial, por el que microorganismos no deseados no pueden colonizar la mucosa en medida importante o se pueden expulsar.
- 15 [0003] Un grupo de microorganismos probióticos se forma por ejemplo mediante cepas de lactobacilos. A este respecto se trata típicamente de bacterias grampositivas microaerófilas o anaeróbicas, que fermentan azúcar bajo la formación de ácidos, particularmente de ácido láctico.
- 20 [0004] Del documento US 5,716,615 se conoce una composición farmacéutica, que contiene entre otros lactobacilos. Esta es aplicable entre otras cosas para el tratamiento de enfermedades del tracto gastrointestinal.
- 25 [0005] Del documento WO 2004/087891 se conocen cepas de Lactobacillus que son adecuadas para la fabricación de composiciones farmacéuticas o dietéticas para el tratamiento de infecciones del tracto gastrointestinal con Helicobacter pylori.
- 30 [0006] Interacciones de lactobacilos con Helicobacter pylori se describen en Wang et al., Am. J. Clin. Nutr. 80:737-41 (2004), Felley et al., Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 17 (5): 785-791 (2003), Cazzato et al., Scandinavian Journal of Nutrition 48(1): 26-31 (2004) und Sgouras et al., Applied and Environmental Microbiology 70 (1): 518-526 (2004).
- 35 [0007] EP 1 112 692 A1 divulga productos secados por pulverización, como alimentos, que pueden contener células Lactobacillus, pero no células Lactobacillus secadas por pulverización.
- 40 [0008] El documento WO 2008/060198 A1 divulga la utilización de células Lactobacillus, como DSM 17581, para la aplicación farmacéutica, donde las bacterias también pueden ser secadas por pulverización. Sin embargo, no se divulga el tratamiento de infecciones H. pylori.
- 45 [0009] Helicobacter pylori es una bacteria espiraliforme, que coloniza el estómago, donde mediante la producción de ureasa es alzado el valor del pH en el estómago y de esta manera se protegen las bacterias contra el ácido gástrico. Las bacterias penetran en la mucosa y se depositan en las células epiteliales. Una infección de este tipo activa el sistema inmunológico propio del cuerpo, donde la respuesta inmune no es lo bastante eficaz para la eliminación de la infección, con la consecuencia de una respuesta inmune fortalecida, que lleva a una inflamación crónica y enfermedad como gastritis o úlceras de estómago y finalmente lleva para al carcinoma.
- 50 [0010] Cuando las células se ligan entre sí y forman aglomerados, este procedimiento se denomina agregación. Cuando con esta formación de agregado sólo está implicado un tipo de células, se denomina autoagregación. En caso de que en la formación de agregado estén implicados al menos dos tipos de células diferentes, el procedimiento se denomina coagregación. El documento WO 2007/073709 del solicitante describe coagregados de lactobacilos con Helicobacter pylori, que pueden ser utilizados para la profilaxis, tratamiento y/o una terapia de erradicación de infecciones de Helicobacter pylori, particularmente se alcanza al menos una reducción de Helicobacter pylori. Además se describen en WO 2007/073709 a tal objeto cepas de Lactobacillus adecuadas que fueron depositadas en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) (Colección alemana de microorganismos y cultivos de células SL), (DSMZ), Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Deutschland, es decir: DSM 17646, DSM 17647, DSM 17648, DSM 17649, DSM 17650, DSM 17651, DSM 17652 und DSM 17653.
- 55 [0011] Las células Lactobacillus idóneas forman coagregados en el contacto con células de Helicobacter pylori. Por la formación de coagregados se impide que Helicobacter pylori penetre en la mucosa del estómago. Las células Helicobacter pylori, particularmente su superficie celular, se enmascaran por las células Lactobacillus, de modo que las células Helicobacter pylori ya no están en posición de ligarse a las células epiteliales del estómago.
- 60 A través del impedimento de unión de Helicobacter pylori a las células epiteliales del estómago, no se producen reacciones de inflamación. Las células Helicobacter pylori enmascaradas y desactivadas se hacen pasar y expulsan en
- 65

forma de coagregados a través del tracto gastrointestinal. Por lo tanto es posible reducir o a erradicar las células *Helicobacter pylori* por la administración de células idóneas de *Lactobacillus*. La aplicación de células de *Lactobacillus* puede ocurrir de forma profiláctica o curativa.

De todas formas vale mejorar este enfoque terapéutico.

[0012] Por lo tanto la invención se basa en la tarea de proporcionar una composición mejorada para la profilaxis y tratamiento de infecciones de *Helicobacter pylori*. Particularmente un medio o composición de este tipo, que permita una formación mejorada de coagregados, donde mediante coagregados formados se inhibe/reduce de forma notable la colonización de la mucosa de estómago con *Helicobacter pylori*.

[0013] La aplicación y la fabricación de lactobacilos pulverizados en seco es conocida en el estado de la técnica, p. ej. Gardiner et al., Comparative Survival Rates of Human-Derived Probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* Strains during Heat Treatment and Spray Drying, Applied and Environmental Microbiology 66 (6): 2605-2612 (2000) und Teixeira et al., Survival of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* Following Spray-Drying, J. Dairy Sci 78:1025-1031 (1995) und Tos t al., Spray Drying, Freeze Drying, or Freezing of three different lactic acid bacteria species, Journal of Food Sci., Wiley-Blackwell Publ., Inc. (US).

[0014] No se ha descrito sin embargo la utilización de lactobacilos secados por pulverización para la formación de coagregados con *Helicobacter pylori* y su aptitud especial en forma de una composición farmacéutica o dietética.

[0015] Las células *Lactobacillus* secadas por pulverización pueden formar de forma particularmente ventajosa grandes coagregados con *Helicobacter pylori* y de esa manera provocar una reducción eficiente de la carga de gérmenes por *Helicobacter pylori*.

De forma especialmente ventajosa el secado por pulverización de las células *Lactobacillus* lleva a una disminución de células *Lactobacillus*, donde además se realiza un aislamiento / separación de las células. A diferencia de otros métodos de secado o métodos efectuados sin secado no se consiguen cadenas de dos a diez células *Lactobacillus* (figura 2A), sino – de forma característica para el secado por pulverización - células individuales (mono) o dos células (dímero) (figura 2B). Estas "células geminativas" son muy adecuadas para la formación in-situ de coagregados después de su aplicación en el medio del estómago y se consiguen coagregados de células *Lactobacillus* y células *Helicobacter pylori* ventajosamente espesos, compactos y eficientes, que presentan además un impedimento estérico ventajosamente pequeño en la fase de formación de los coagregados. Estas células *Lactobacillus* secadas por pulverización presentan un afinidad de enlace más alta a *Helicobacter pylori*, como por ejemplo aquellas que se pueden producir según la teoría técnica de WO 2007/073709. Por medio de la afinidad de enlace más elevada se pueden ligar y unir más células *Helicobacter pylori* a través de menos células de lactobacilos. La afinidad de enlace más alta lleva además a una estabilidad más alta de los coagregados formados.

[0016] Además es ventajoso, que las células *Lactobacillus* presentadas por pulverización presentan igualmente una proporción aumentada de células *Lactobacillus* no vivas y / o fragmentos de células, que apoyan igualmente la formación espontánea de coagregados. La proporción de células *Lactobacillus* sin vida y/o fragmentos de las mismas puede ser de más del 80%, más del 90 % incluso del 100 %.

[0017] Los coagregados según la invención recorren el tracto gastrointestinal y abandonan el cuerpo en modo natural. Mismamente en caso de que haya tenido lugar la infección, es útil este mecanismo de acción de cepas *Lactobacillus* secadas por pulverización según la invención, puesto que es impedida otra infección con bacterias adicionales de *Helicobacter pylori* y de esta forma se puede combatir más fácilmente la infección preexistente a través de la Inactivación / secreción de las bacterias *Helicobacter pylori* existentes. A esto se añade, que las cepas *Lactobacillus* según la invención presumiblemente también están en posición de inhibir la actividad de ureasa de *Helicobacter pylori*, de modo que las bacterias *Helicobacter pylori* en los coagregados pierden el ataque de ácido gástrico. De este modo se logra también un efecto sinérgico.

[0018] Las células *Lactobacillus* o cepas *Lactobacillus* secadas por pulverización presentan la ventaja especial de que se aumenta la afinidad de enlace a *Helicobacter pylori* (supra). Debido a que la superficie de *Helicobacter pylori* se enmascara por medio de las células *Lactobacillus*, se impide una penetración de *Helicobacter pylori* en la mucosa y como consecuencia no puede tener lugar una infección de *Helicobacter pylori* junto con procesos inflamatorios crónicos y enfermedades consecuentes como gastritis, úlceras de estómago o úlceras hasta cáncer de estómago se impiden de forma segura.

[0019] Además los coagregados según la invención de células *Helicobacter pylori* y células *Lactobacillus* secadas por pulverización presentan una estabilidad aumentada, de modo que en primer lugar se puede integrar un número aumentado de *Helicobacter pylori* en estos coagregados y en segundo lugar no tiene lugar ninguna liberación de células de *Helicobacter pylori* previamente ligadas a través de p. ej. movimientos de estómago. Esta ventaja permite una dosificación ventajosamente más baja frente a los coagregados conocidos del estado de la técnica. Además permiten las células *Lactobacillus* secadas por pulverización según la invención una solubilidad ventajosamente aumentada en agua, de modo que se puede lograr una distribución mejorada de células secadas por pulverización y de los coagregados obtenidos en el espacio del estómago.

- 5 [0020] Además los inventores podían constatar que por medio del secado por pulverización de las células *Lactobacillus* se impide una formación de agregados sin control de los mismos lactobacilos (autoagregación) o al menos se reduce en gran medida frente a lactobacilos frescos no secados por pulverización. Por la autoagregación de células *Lactobacillus* entre sí se ocupan los sitios de enlace para el enmascaramiento de *Helicobacter pylori*. La reducción o impedimento de la autoagregación lleva por lo tanto igualmente a una dosificación ventajosamente más reducida de los lactobacilos empleados frente al estado de la técnica.
- 10 [0021] El procedimiento de pulverización según la invención provoca un cambio morfológico de los lactobacilos, de modo que se aumenta la afinidad de enlace para *Helicobacter pylori* y así puede tener lugar una formación de coagregado mejorada.
- 15 [0022] El procedimiento de pulverización provoca un cambio morfológico de los lactobacilos, de modo que se aumenta la afinidad de enlace para *Helicobacter pylori* y así puede ocurrir una formación de coagregado mejorada.
- 20 [0023] Por lo tanto se refiere la invención a una composición farmacéutica o dietética que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización para el uso en la profilaxis y tratamiento de infecciones *Helicobacter pylori* a animales y a seres humano, particularmente mamíferos.
- 25 [0024] En otra forma de realización de la invención existen las células *Lactobacillus* secadas por pulverización en la composición preferiblemente y esencialmente en una forma de mono y/o dímeros (supra, Fig. 2B).
- 30 [0025] Por lo tanto se puede producir una composición de este tipo según la invención, donde a.) las células *Lactobacillus* son secadas por pulverización y b.) las células *Lactobacillus* obtenidas secadas por pulverización se introducen un soporte fisiológicamente tolerable (ejemplos de formas de realización de portadores farmacéuticamente fisiológicamente tolerables son descritos abajo).
- 35 [0026] Además se refiere la invención a una composición de este tipo, donde después de la aplicación a seres humanos o animales se forman in situ coagregados con *Helicobacter pylori* en el medio del estómago, que preferiblemente son mayores y no menores que 50 μm , particularmente mayores y no menores que 100 μm , 150 μm , particularmente mayores que 500 μm , preferencialmente mayores que 1,000 μm o 1,100 μm .
- 40 [0027] El concepto "células *Lactobacillus*" en el sentido de la invención (en sentido amplio, bacterias de ácido láctico, también lactobacilos) comprende dichos microorganismos, que necesitan hidratos de carbono, en particular glucosa y lactosa, para la fermentación de ácido láctico y en general usan el camino de biosíntesis Embden-Meyerhof. Las células *Lactobacillus* se resumen taxonómicamente en la familia *Lactobacteriaceae*. Son grampositivas, no forman esporas y en general inmóviles. Las células *Lactobacillus* viven anaeróbicamente, son sin embargo aerotolerantes, aunque no contienen heminas (citocromo, catalasa) (Schleifer et al., *System. Appl. Microb.*: 18, 461-467 (1995) oder Ludwig et al., *System. Appl. Microb.* 15: 487-501 (1992). Las células *Lactobacillus* o las especies pueden sobre la base de *acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus curvatus* und *Lactobacillus plantarum* (todos homofementativos), además *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus viridescens* como también *Bifidobacterium bifidum* (todos heterofementativos). Células *Lactobacillus* adecuadas de la solicitante se han depositado a título de ejemplo: DSM 17646, DSM 17647, DSM 17648, DSM 17649, DSM 17650, DSM 17651, DSM 17652 und DSM 17653 (supra). *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus buchneri* und *Lactobacillus pentosus* se prefieren según la invención.
- 45 [0028] Según la invención están comprendidas igualmente dichas "células *Lactobacillus*" incluyendo "derivados" o "análogas" o "mutantes" de estas, que están inactivadas, con vida o sin vida o representan partes y fragmentos, por ejemplo productos de escisión mecánicos o enzimáticos o (p.ej. prensa francesa etc.), de células *Lactobacillus* en cuanto estas presentan la aptitud para la coagregación.
- 50 [0029] Los conceptos y "derivados" "análogos" "mutantes" o "inactivado" comprenden en este caso también sobrenadantes de células o fermentación, lisado, fracciones o extractos de "células *Lactobacillus*", donde estos sobrenadantes celulares o de fermentación, lisados, fracciones o extractos poseen preferiblemente las características de células/ cepas/ microorganismos de *Lactobacillus* según la invención. A este respecto significa "lisado" - como también el concepto "extracto" - particularmente una solución o suspensión en un medio acuoso de las células según la invención del microorganismo y comprende por ejemplo macromoléculas, como ADN, ARN, proteínas, péptidos, lípidos, hidratos de carbono y similares, así como particularmente también escombros celulares. Preferiblemente comprende el lisado también pared celular o componentes de pared celular. Procedimientos para la fabricación de lisados son conocidos de forma suficiente por el experto y comprenden p.ej. el uso de una "prensa francesa" o lisis enzimática, molino de bolas con esferas de hierro o con perla de vidrio. El rompimiento de células puede tener lugar de forma enzimática, física o química. Ejemplos de lisis celulares enzimáticas pueden ser enzimas individuales como también cócteles enzimáticos, como proteasas, proteinasa K, lipasas, glicosidasas; las lisis químicas se pueden provocar por ionóforos, detergentes como SDS, ácidos o bases; los métodos físicos se pueden provocar a través de presiones altas,
- 55
60
65

como prensa francesa, osmolaridad, temperaturas o cambio entre calor y frío. Además pueden combinarse métodos naturalmente químicos, físicos y enzimáticos.

5 [0030] Los "derivados" o "análogos" o "mutantes" o "inactivado de las células / cepas / microorganismos " de Lactobacillus según la invención presentan preferiblemente las mismas características que las cepas mencionadas. En este caso ya no se da preferiblemente una actividad metabólica en la " (forma) inactivada" o "derivados" o "análogos". "Análogos" de las células / cepas / microorganismos de Lactobacillus según la invención representan una forma del lisado o fragmentos. Un "fragmento" de las células /cepas / microorganismos de Lactobacillus según la invención
10 representa una parte de las células, como p.ej. membrana celular, macromoléculas, como ADN, ARN, proteínas, péptidos, lípidos, hidratos de carbono y similares, así como también escombros celulares. El experto puede justificar los conceptos "análogos", "fragmentos", "derivados" o "mutantes" conforme a su sentido e interpretar los conceptos en el sentido de la presente invención. Para poner a disposición mutantes, derivados, fragmentos o análogos de células / cepas /microorganismos de Lactobacillus, el experto puede recurrir a bibliografía estándar, que existe y divulga técnicas, que se pueden usar para la producción de mutantes, derivados, fragmentos o análogos. Mutantes o variantes
15 modificadas genéticamente o derivados son modificados de forma genética, por ejemplo a través de tecnologías-ADN recombinantes (clonar, secuenciar, transformar ácidos nucleicos recombinantes), como también mutagénesis física, por ejemplo a través de radiación ultravioleta, pero también a través de agentes químicos, como con etil metano sulfonato (EMS). Se pueden seleccionar variaciones en las características positivas – bien de manera intencionada o por la evaluación de un gran número de mutantes surgidos. Mutantes modificados genéticamente comprenden células de los
20 microorganismos según la invención y hospedan ácidos nucleicos recombinantes en sus plásmidos y/o cromosoma bacteriano. Las modificaciones por mutaciones de punto pueden además tener efectos sobre la expresión/ transcripción/ traslación, como también mutaciones espontáneas sin manipulación genética directa (véase p.ej. J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, Cold Molecular cloning: a laboratory manual / Spring Harbor Laboratory Press, 3. Auflage (2001)).

25 [0031] Todos estos microorganismos se denominan antes y después "células Lactobacillus".

[0032] Cromosoma y/o plásmidos. Las modificaciones por mutaciones de punto pueden a su vez tener efectos sobre la expresión/ transcripción /traslación, como también mutaciones espontáneas sin manipulación genética directa (véase p.ej. J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis, Cold Molecular cloning: a laboratory manual / Spring Harbor Laboratory Press, 3. Auflage (2001)).
30

[0033] Todos estos microorganismos se denominan antes y después "células Lactobacillus".

[0034] Las condiciones de cultivo esenciales del tracto estomacal humano comprenden un valor del ph en el área de 1,8 hasta 4,5 y la presencia de pepsina y NaCl. Un medio de referencia, que es característico de dichas condiciones de cultivo, comprende los componentes siguientes: agua, 5 g/l NaCl así como 3 g/l de pepsina donde el valor de pH se ajusta a 2,0 o 4,0 con ácido clorhídrico, para simular un estómago vacío o lleno.
35

[0035] El concepto del "coagregación" en es sentido de la Invención designa la formación de agregados celulares de un tamaño de al menos 50 µm o 100 µm y más, que contienen células Lactobacillus secadas por pulverización según la invención y células Helicobacter pylori, en suspensiones, por ejemplo según los ejemplos siguientes, particularmente en un medio de referencia, como se ha descrito anteriormente.
40

[0036] El concepto " células Lactobacillus secadas por pulverización " en el sentido de la Invención significa que las células Lactobacillus se secan mediante un método de pulverización o de vaporización (sinónimo), donde p.ej. una suspensión de células Lactobacillus se divide en gotitas finas de tipo niebla y puede obtenerse un polvo.
45

[0037] En un secado por pulverización una solución o suspensión que contiene células Lactobacillus se pulveriza en un medio de secado caliente y de esta manera se seca. La mezcla por pulverizar puede tener forma de solución, emulsión, suspensión o dispersión. Con ayuda una tobera o una rueda espray se pulveriza en millones de gotita individuales, al mismo tiempo que se agranda la superficie en gran medida. El disolvente, como agua, se vaporiza y desaparece rápidamente a través del aire caliente. Además solamente las células Lactobacillus son secadas por pulverización. de la compañía Büchi Labortechnik AG (Deutschland) o SD-6.3-R de la compañía GEA Niro (Dänemark). Además es conocido, que se pueden usar cualesquiera medios auxiliares y aditivos.
50
55

[0038] La invención se refiere además a una composición farmacéutica y/o dietética que contiene una dosis fisiológica eficaz de células Lactobacillus secadas por pulverización según la invención células y un soporte fisiológicamente tolerable. Las composiciones farmacéuticas son composiciones, que solamente sirven a objetivos terapéuticos o profilácticos y donde además de células Lactobacillus únicamente se han añadido componentes auxiliares y/o soportes habituales en la galénica. Las composiciones dietéticas en el sentido de la presente invención son composiciones, que además de células Lactobacillus secadas por pulverización según la invención comprenden un alimento (véase p.ej. de forma no concluyente Directiva de la UE 2002/46/EG del 10 junio 2002) y/o un pienso para animales domésticos y/o animales útiles y / o suplemento alimenticio, que eventualmente contienen componentes auxiliares y aditivos.
60

[0039] La invención se refiere a también a la utilización o uso de células Lactobacillus secadas por pulverización para la fabricación de una composición farmacéutica o dietética, o un producto farmacéutico o un suplemento alimenticio que
65

contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización o una composición farmacéutica o dietética, especialmente para la profilaxis e/o tratamiento de enfermedades causadas por la infección con *Helicobacter pylori*, por ejemplo enfermedades gastrointestinales. Entre estas están particularmente gastritis, úlceras de estómago, úlcera y cáncer de estómago. Además están comprendidas aquellas enfermedades y síntomas, como molestias de vientre, particularmente molestias en el abdomen superior, presión de estómago, calambres de estómago, dolor de estómago, dolores o presión en el abdomen superior, quemazón en el abdomen superior, molestias abdominales crónicas, sensación de estómago lleno, inapetencia, hambre dolorosa, flatulencias, ardor de estómago, diarrea, irregularidades en deposiciones, mal, náuseas, asco y vómito, intolerancias alimenticias, malabsorción, estómago irritable (dispepsia funcional), gastritis, daño de mucosa, enfermedad de úlcera gastroduodenal.

[0040] Además se refiere la invención a la utilización o uso de células *Lactobacillus* secadas por pulverización según la invención, o un medicamento o un suplemento alimenticio que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización o una composición farmacéutica o dietética, para la erradicación o terapia de erradicación de *Helicobacter pylori*, eventualmente en combinación con otros agentes activos idóneos, como antibióticos.

[0041] Una composición farmacéutica o dietética según la invención o, particularmente un suplemento alimenticio o producto farmacéutico (medicamento), se puede caracterizar por el hecho de que contiene 10^2 hasta 10^{15} , preferiblemente 10^4 o 10^8 hasta 10^{12} , particularmente 10^8 hasta 10^{10} , células *Lactobacillus* secadas por pulverización. El tamaño de referencia es una unidad de administración, por ejemplo una pastilla. La composición preferiblemente se prepara para la administración oral.

[0042] La preparación galénica de una composición dietética o farmacéutica según la invención, particularmente un suplemento alimenticio o producto farmacéutico (medicamento), puede tener lugar conforme a la técnica. Formas de preparación galénicas adecuadas compactas o líquidas son por ejemplo granulados, polvo, grageas, pastillas, microcápsulas, cápsulas duras, supositorios, jarabes, zumos, suspensiones, o emulsiones, para cuya fabricación se emplean excipientes habituales en la fabricación como soportes, explosivos, aglutinante, de revestimiento, Gleit™ o lubricante, sabores aromáticos, edulcorantes y agente de solubilización. Como excipientes se citan estearado de magnesio, cloruro sódico, carbonato de magnesio, dióxido de titanio, lactosa, manita y otros azúcares, talco, proteína de la leche, gelatina, almidón, celulosa y sus derivados, aceites vegetales y animales como aceite de hígado de bacalao, aceite de sésamo, cacahuete o girasol, polietilenglicoles y disolventes, como por ejemplo agua estéril y alcohol mono o polivalente, por ejemplo glicerina. Una composición farmacéutica según la invención se puede producir de manera que células de al menos una cepa de *Lactobacillus* según la invención se mezcla en dosis definida con un soporte farmacológicamente adecuado y fisiológicamente tolerable y en su caso con otros excipientes, aditivos o principios activos con dosis definida y se prepara a esta forma de administración deseada. Como soportes entran en particular en consideración, los seleccionados del grupo que consiste en maltodextrina, celulosa microcristalina, almidón, particularmente almidón de maíz, levulosa, disolvente, como por ejemplo agua estéril y alcohol mono o polivalente, por ejemplo glicerina. Una composición farmacéutica según la invención se puede producir de forma que células de al menos una de capa utilizada de *Lactobacillus* según la invención se mezcla en dosis definida con un soporte farmacológicamente adecuado y fisiológicamente tolerable y en su caso con otros excipientes, aditivos o principios activos con dosis definida y se prepara a esta forma de administración deseada. Como soportes entran en particular en consideración los que son seleccionados del grupo que consiste en maltodextrina, celulosa microcristalina, almidón, particularmente almidón de maíz, levulosa, lactosa, dextrosa y mezclas de tales sustancias. La composición puede contener o consistir en 0,1 hasta 95 % en peso de soporte y 5 hasta 99,9 % en peso de células *Lactobacillus* secadas por pulverización, en referencia a la cantidad total de células y soporte.

[0043] En el caso de la composición farmacéutica y / o suplementos alimenticios se puede prever, que la composición contenga 10^2 hasta 10^{15} , preferiblemente 10^4 hasta 10^{12} , particularmente 10^8 hasta 10^{10} , de células *Lactobacillus*. El tamaño de referencia es una unidad de administración, por ejemplo una unidad de embalaje de un alimentos para venta a un consumidor final. El soporte fisiológicamente tolerable será generalmente un alimento, que se selecciona particularmente del grupo que consiste en productos lácteos, productos lácteos fermentados, leche, yogur, queso, cereales, barritas de müsli, bebidas y productos de panadería y pastelería y preparaciones alimenticias para niños. Productos alimenticios adecuados según la invención. Incluyendo agua, son aquellos como p.ej. definidos de forma no concluyente en el Reglamento (EG) Nr. 178/2002 del 28. enero 2002.

[0044] La invención se refiere además a un método para la fabricación de una composición farmacéutica y/o dietética según la invención, particularmente un suplemento alimenticio o producto farmacéutico (medicamento), siendo las células *Lactobacillus* secadas por pulverización mezcladas con el soporte fisiológicamente tolerable y preferiblemente preparadas para la administración oral.

[0045] Además se divulga un método para la fabricación de una composición según la invención, donde las células *Lactobacillus* son (i) opcionalmente enriquecidas y (ii) fermentadas y (iii) y secadas por pulverización y a continuación se mezclan con un soporte fisiológicamente tolerable y se preparan preferiblemente para la administración oral. De forma ilimitada. Particularmente es adecuado esto último para una profilaxis duradera así como una prevención de enfermedades de recaída.

[0046] A continuación la invención se explica de forma detallada por medio de únicamente ejemplos descriptivos de

formas de realización, sin querer limitar la invención a estos ejemplos.

Ejemplos y figuras:

5 Ejemplo 1: Almacenamiento de cepas usadas

[0047] El almacenamiento de las cepas *Lactobacillus* se realizó en el estado helado. 1 ml de un cultivo cultivado hasta la fase estacionaria (OD₆₀₀/ml 4-8) en medio MRS (55g/l, pH 6,5; Difco, USA) fue mezclado con 500 µl de una solución de glicerina estéril de 50 % (v/v) y la mezcla se congeló a - 80 °C.

10

[0048] El almacenamiento de *Helicobacter pylori* se realizó en estado helado. 1 ml de un cultivo cultivado hasta la fase estacionaria en caldo de brucella (28g/l, pH 7,0; BD USA), suplementado con 10 % (v/v) de suero fetal bovino (Biochrom), fue mezclado con 500 µl de una solución de glicerina estéril al 50 % (v/v) y la mezcla se congeló - 80 °C.

15 Ejemplo 2: Proceso para la producción de células *Lactobacillus* secadas por pulverización

[0049] Un *Lactobacillus* secado por pulverización, que está en posición de coagregar *Helicobacter pylori*, bajo las condiciones de cultivo del tracto digestivo humano, particularmente del estómago, fue producido como se describe a continuación:

20

El precultivo 1 tuvo lugar en un vaso de reacción de 15 ml en un medio MRS de 10 ml. El medio fue inoculado con células cultivadas en fresco, congeladas, liofilizadas o secadas por pulverización de la cepa *Lactobacillus*. Este precultivo 1 fue incubado durante 24 h a 37 °C bajo condiciones anaeróbicas. El precultivo completo 1 fue usado para inocular el precultivo 2. El precultivo 2 consistía en 240 ml de medio MRS con 10 ml de precultivo 1. El precultivo 2 fue incubado durante 19 h a 37 °C bajo condiciones anaeróbicas. Al final de cada precultivo fueron determinados densidad óptica, valor de ph y cfu.

25

[0050] Para la fermentación de *Lactobacillus* fueron usados 5 litros de MRS. El fermentador fue autoclavado con todos los componentes necesarios. Los valores nominales para la temperatura y el número de revoluciones de agitación eran 37 °C y 150 U / min. La concentración de inoculación era de un 5%. Al final de la fermentación se determinaron el número de células, unidades formadoras de colonias, pH, densidad óptica a 600 nm y la concentración de glucosa y lactato. A continuación el caldo de fermentación se concentró 10 veces hasta 20 veces más. A continuación el concentrado fue congelado.

30

[0051] Antes de del secado fue descongelado el concentrado multiplicado por 20 y se centrifugó a 4300 X g durante 15 minutos. Las células en un nuevamente centrifuga una vez con 0,9 % solución NaCl lavado y a 4300 X g para 15 minutos. Después las células fueron resuspendidas en 500 ml de 10 % de solución NaCl.

35

[0052] El secado por pulverización fue hecho en un secador Büchi minispray B-191. La temperatura inicial era 140 °C. La temperatura de salida era 86 °C. La corriente de aire caliente era 550 L/si. El rendimiento del aspirador era de 75 %, el índice de bombeo 5 %. La suspensión celular se secó con los parámetros anteriores y a continuación fue tomado el polvo de *Lactobacillus* secado por pulverización.

40

[0053] A continuación siguió una determinación del número de células total y número de células vivientes de la cepa *Lactobacillus* por gramo de polvo secado por pulverización. El examen microscópico del polvo secado por pulverización (figura 2B) mostró que las células *Lactobacillus* son más pequeñas que las células *Lactobacillus* (figura 2A) no secadas por pulverización y que las células *Lactobacillus* secadas por pulverización existen en mono y dímeros, mientras que las células *Lactobacillus* no secadas por pulverización presentan cadenas más largas. Hasta nueva aplicación las células *Lactobacillus* secadas por pulverización fueron almacenadas a 4 °C.

45

50

Ejemplo 3: Comparación de la coagregación de *Helicobacter pylori* a través de células *Lactobacillus* o cepas *Lactobacillus* secadas por pulverización y no secadas por pulverización bajo condiciones del estómago

[0054] El cultivo de células *Lactobacillus* se realizó en tubos cerrados de 15 ml en medio MRS a 37 °C durante 24 h. Para el examen de lactobacilos secados por pulverización se resuspendió el polvo secado por pulverización en PBS con una concentración de 10 mg / ml. *Helicobacter pylori* fue cultivado durante aprox. 2 días en matraz Erlenmeyer bajo condiciones microaerófilas en caldo Brucella (28 g / L, pH 7,0; BD, USA) con 10% de suero bovino fetal (Biochrom) a 37 °C. Después del cultivo se examinó la morfología celular de *Helicobacter pylori* de manera microscópica. Se hicieron ensayos con células de morfología sigmoidal o con células de morfología cocoidal. También se examinaron cultivos con morfología mezclada.

55

60

[0055] Las células respectivas fueron cosechadas por centrifugación siendo 3200 g durante 10 min y el sobrenadante fue desechado. Las células *Lactobacillus* fueron lavadas una vez en tampón de 5 ml y resuspendidas en tampón PBS de 5 ml (tampón PBS que contiene 1,5 g/l Na₂HPO₄·2H₂O, 0,2 g/l KH₂PO₄ y 8,8 g/l NaCl). Las células *Helicobacter pylori* fueron lavadas una vez en 5 ml de tampón PBS y resuspendidas en 5 ml de jugo gástrico artificial (que contiene 5 g/l NaCl y 3 g/l pepsina (Sigma)). El valor OD₆₀₀ fue medido para las células respectivas y sobre un valor de 2 para

65

Helicobacter pylori o 4 para Lactobacillus mediante la adición de jugo gástrico artificial o tampón PBS ajustado.

[0056] 2,5 ml de cada suspensión celular obtenida así (Helicobacter pylori /Lactobacillus) fueron mezclados y la mezcla fue agitada durante 10 s hasta 10 min. El resultado era también visible de forma óptica a través de clara floculación de las muestras que contenían Helicobacter pylori y Lactobacillus, y fue también examinado de manera microscópica.

[0057] Figura 1A muestra la imagen microscópica de coagregados de Helicobacter pylori y células de Lactobacillus DSM 17648 no secadas por pulverización. Figura 1B muestra la imagen microscópica de coagregados de Helicobacter pylori y células de Lactobacillus DSM 17648 secadas por pulverización. Estos coagregados son bastante mayores que los coagregados de células Lactobacillus no secadas por pulverización. Se llevaron a cabo experimentos de control sobre autoagregación a través del examen separado de cultivos con respectivamente Lactobacillus y Helicobacter pylori de forma aislada. En las figuras 1C 1D, 1D y 1E no se ve coagregación ni autoagregación. Figura 1C muestra la imagen microscópica de células Lactobacillus DSM 17648 cultivadas en fresco bajo condiciones de estómago artificiales. Figura 1D muestra la imagen microscópica de células secadas por pulverización Lactobacillus DSM 17648 bajo condiciones de estómago artificiales. Figura 1E muestra la imagen microscópica de células Helicobacter pylori cultivadas en fresco bajo condiciones de estómago artificiales.

Ejemplo 4: Probar la estabilidad de los coagregados entre células Lactobacillus secadas por pulverización y células Helicobacter pylori

[0058] Para probar la estabilidad de los coagregados bajo condiciones in vivo los experimentos se realizaron como en el ejemplo 3. Los coagregados formados después de 5 minutos de agitación entre células Lactobacillus y células Helicobacter pylori fueron expuestos a altas fuerzas de cizallamiento por el pipeteado de la suspensión durante 1 minuto o 2 minutos de agitación a alta velocidad. Después se examinó el tamaño del coagregado de manera microscópica y macroscópica. El tamaño de los coagregados de células Lactobacillus secadas por pulverización y Helicobacter pylori no disminuía, mientras que disminuía el tamaño de los coagregados de células Lactobacillus no secadas por pulverización y Helicobacter pylori.

Ejemplo 5: Fabricación de una composición farmacéutica con cepas Lactobacillus según la invención

[0059] Las células de una cepa Lactobacillus o varias cepas de Lactobacillus de la invención se crían según el ejemplo 1 y 2 y se secan por pulverización. El polvo secado por pulverización es molido entonces sobre un tamaño de partícula de máximo aprox. 1 mm de diámetro. El granulado obtenido se mezcla en las proporciones de cantidades siguientes (% en peso) con sustancias del portador o excipientes: 20% granulado, 2% dióxido de silicio (Syloid IFP-AI, GRACE Davidson), 1% estearato de magnesio (MF-2-V; Ackros), 77% celulosa microcristalina (Avicel PH 112, FMC).

[0060] La mezcla se realiza en un micromezclador Quintech en la posición 70 nivel II. Todos los componentes son añadidos simultáneamente. La mezcla se realiza durante aprox. 120 s. A continuación se comprime la mezcla obtenida en una prensa de comprimidos habitual en el mercado bajo condiciones normales, pero con fuerza de compresión a ser posible más baja (< 10 kN) en comprimidos con un peso de aprox. 500 mg. Cada pastilla contiene aprox. 10^8 hasta 10^{10} de células Lactobacillus secadas por pulverización.

[0061] Ejemplo 6: Comparación de la coagregación de Helicobacter pylori a través de células Lactobacillus o cepas Lactobacillus no secadas por pulverización y secadas por pulverización usando diferentes números de células de Lactobacillus.

[0062] El cultivo de células Lactobacillus se realizó en tubos cerrados de 15 ml en medio MRS a 37 °C durante 24 h. Para el examen de células Lactobacillus secadas por pulverización fue resuspendido el polvo secado por pulverización en PBS con una concentración de 10 mg / ml. Helicobacter pylori fue cultivado durante aprox. 2 días en matraz de Erlenmeyer bajo condiciones microaerófilas en caldo Brucella (28 g / L, pH 7,0; BD, USA) con 10 % suero bovino fetal (Biochrom) a 37 °C. Después del cultivo la morfología celular de Helicobacter pylori fue examinada de modo microscópico. Se realizaron ensayos con células de morfología sigmoidal o con células de morfología cocoidal. También se examinaron cultivos de morfología mezclada.

[0063] Las células respectivas fueron recogidas por centrifugación con 3200 g durante 10 min. y el sobrenadante fue desechado. Las células Lactobacillus fueron lavadas una vez en 5 ml de tampón y resuspendidas en 5 ml de tampón PBS (tampón de PBS que contiene 1,5 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g/l KH_2PO_4 y 8,8 g/l NaCl). Las células Helicobacter pylori fueron lavadas una vez en 5 ml de tampón PBS y resuspendidas en 5 ml de jugo gástrico artificial (conteniendo 5 g/l NaCl y 3 g/l pepsina (Sigma)). El valor OD600 valor fue medido para las células respectivas y ajustado a un valor de 2 para Helicobacter pylori o 4 para Lactobacillus mediante la adición de jugo gástrico artificial y tampón PBS.

[0064] De las suspensiones de Lactobacillus se realizó una determinación del número de células mediante cámara thoma y diluciones, para conseguir suspensiones con números de células definidos de forma diferente. 2,5 ml de cada suspensión celular obtenida así (Helicobacter pylori / Lactobacillus) fueron mezclados y la mezcla fue agitada durante 5 min. Después de un tiempo de reposo de 2 minutos el resultado era también visible tanto de forma óptica a través de floculación en las muestras, que contenían Helicobacter pylori y Lactobacillus, como también de manera microscópica

(fotografías no mostradas). Para la cuantificación de la coagregación se tomó de la fase libre de coagregado (sobrenadante; sedimentar coagregado) 1 ml y se determinó el OD600.

Sobre la fórmula

5

$$\text{Fuerza de coagregación \%} = \frac{(\text{OD}_{\text{H. pylori}} + \text{OD}_{\text{Lactobacillus}}) - \text{OD}_{\text{H.p.+Lactobacillus}}}{\text{OD}_{\text{H. pylori}} + \text{OD}_{\text{Lactobacillus}}} \times 100$$

se determinó la fuerza de coagregación (en %). Las figuras 3 y 4 muestran la fuerza de coagregación de células Lactobacillus DSM 17648 cultivadas en fresco frente a Helicobacter pylori. 0 % representa el OD600 del Helicobacter pylori (en el sobrenadante) sin adición de células Lactobacillus (ninguna coagregación o ninguna sedimentación condicionada por la coagregación). El 100 % de la fuerza de agregación representa una fuerza de coagregación máxima, por lo tanto un OD600 de 0 o el OD600 del medio utilizado sin células (todas las células Helicobacter pylori sedimentan a causa de la coagregación y ninguna célula Helicobacter pylori se registra en el sobrenadante por medición OD).

10

15

[0065] Con el mismo número de células, las células Lactobacillus secadas por pulverización presentan una fuerza de coagregación de Helicobacter pylori superior al doble que las células cultivadas en fresco (figura 3 y 4).

Descripción de las figuras:

20

[0066]

Figura 1A muestra coagregados de células Lactobacillus DSM 17648 y Helicobacter pylori (los coagregados muestran un tamaño de 40 µm y más) cultivadas en fresco no secadas por pulverización bajo condiciones de estómago simuladas.

25

Figura 1B muestra un coagregado muy grande de células Lactobacillus DSM 17648 secado espray y Helicobacter pylori (los coagregados muestran un tamaño de 40 µm y más) bajo condiciones de estómago simuladas.

30

Figuras 1C a 1E sirven de controles en el experimento.

Figura 1C muestra células Lactobacillus DSM 17648 cultivadas en fresco bajo condiciones de estómago simuladas. Una autoagregación no es reconocible.

35

Figura 1D muestra células Lactobacillus DSM 17648 secadas por pulverización bajo condiciones de estómago simuladas. Una autoagregación no es reconocible.

Figura 1E muestra células Helicobacter pylori cultivadas en fresco bajo condiciones de estómago simuladas. Una autoagregación no es reconocible. (Figuras A-E han ampliado el tamaño por 1000)

40

Figuras 2A y 2B muestran la morfología de las células Lactobacillus.

Figura 2A muestra células Lactobacillus no secadas por pulverización. Las células están en cadenas de 2 hasta 10 células.

45

Figura 2B muestra células Lactobacillus secadas por pulverización. Las células se presentan como monómeras y dímeros (1 hasta 2 células) y están muy reducidas en comparación con las células no secadas por pulverización.

Figura 3: Comparación de la fuerza de coagregación de células Lactobacillus DSM 17648 cultivadas en fresco y secadas por pulverización frente a Helicobacter pylori. Se utilizaron respectivamente 1,4 X 10⁸ células Lactobacillus en las pruebas. Con el mismo número de células presentan las células Lactobacillus secadas por pulverización una actividad de coagregación de Helicobacter pylori superior al doble que las células cultivadas en fresco. 0 % representa el OD600 de Helicobacter pylori (en el sobrenadante) sin adición de células Lactobacillus (sin coagregación ni sedimentación condicionada por la agregación). El 100 % de la fuerza de agregación representa una fuerza de coagregación máxima, por lo tanto un OD600 de 0 o el OD600 del medio utilizado sin células (todas las células Helicobacter pylori sedimentan a causa de la coagregación y no se registran células Helicobacter pylori en el sobrenadante por medición OD).

50

55

Figura 4: Comparación de la fuerza de coagregación de células Lactobacillus DSM 17648 cultivadas en fresco y secadas por pulverización frente a Helicobacter pylori. Se utilizaron cantidades respectivamente diferentes de células

60

ES 2 600 963 T3

5 Lactobacillus en las pruebas. Las células Lactobacillus secadas por pulverización presentan el doble de fuerza de coagregación de Helicobacter pylori que las células cultivadas en fresco. 0 % representa el OD600 del Helicobacter pylori (en el sobrenadante) sin adición de células Lactobacillus (sin coagregación ni sedimentación condicionada por la coagregación). El 100 % de la fuerza de agregación representa una fuerza de coagregación máxima, por lo tanto un OD600 de 0 o el OD600 del medio utilizado sin células (todas las células Helicobacter pylori sedimentan a causa de la coagregación y no se registran células Helicobacter pylori en el sobrenadante mediante medición OD).

REVINDICACIONES

- 5 1. Composición que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización para el uso en el tratamiento y profilaxis de infecciones por *Helicobacter pylori* a seres humanos o animales.
2. Composición para el uso según la reivindicación 1 que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización, **caracterizada por el hecho de que** estas están esencialmente presentes en una forma monómera y/o dímera.
- 10 3. Composición para el uso según la reivindicación 1 o 2, donde a.) las células *Lactobacillus* son secadas por pulverización y b.) las células *Lactobacillus* obtenidas secadas por pulverización se introducen en un soporte fisiológicamente compatible.
- 15 4. Composición para el uso según una de las reivindicaciones precedentes, donde después de la aplicación en el medio estomacal se forman in situ coagregados con *Helicobacter pylori*.
5. Composición para la aplicación según una de las reivindicaciones precedentes, donde los coagregados no son menores que 50 µm, particularmente mayores que 500 µm.
- 20 6. Composición para el uso según una de las reivindicaciones precedentes, donde se seleccionan las células *Lactobacillus* del grupo *lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus curvatus* und *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus viridescens*, DSM 17646, DSM 17647, DSM 17648, DSM 17649, DSM 17650, DSM 17651, DSM 17652, DSM 17653, preferentemente *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus buchneri* y *Lactobacillus pentosus*.
- 25 7. Composición para el uso según una de las reivindicaciones precedentes, **caracterizada por el hecho de que** existe una composición farmacéutica o dietética, particularmente en forma de un alimento o producto alimenticio y/o un pienso para animales domésticos y/o útiles y/ o suplemento alimenticio que eventualmente contiene excipientes y aditivos.
- 30 8. Composición para el uso según una de las reivindicaciones precedentes para la terapia de erradicación de *Helicobacter pylori*, eventualmente. en combinación con otros agentes activos idóneos, como antibióticos.
- 35 9. Producto farmacéutico que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización o una composición según la reivindicación 1 para el uso y profilaxis de infecciones por *Helicobacter pylori* a seres humanos o animales.
- 40 10. Suplemento alimenticio que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización o una composición según la reivindicación 1 para el uso en el caso de infecciones por *Helicobacter pylori* a seres humanos o animales.
- 45 11. Producto farmacéutico o suplemento alimenticio o composición dietética que contiene células *Lactobacillus* secadas por pulverización para el uso en infecciones con enfermedades debidas a *Helicobacter pylori*, particularmente enfermedades gastrointestinales, como gastritis, úlceras de estómago, cáncer de estómago, molestias de vientre, particularmente molestias del abdomen superior, presión de estómago, calambres de estómago, dolor de estómago, dolores o presión en el abdomen superior, quemazón en el abdomen superior, molestias abdominales recurrentes de forma crónica, sensación continua de estómago lleno, falta de apetito, hambre dolorosa, flatulencias, ardor de estómago, diarrea, irregularidades en el tracto intestinal, indisposición, náuseas, vómitos, intolerancias alimentarias, malabsorción, irritación de estómago (dispepsia funcional), inflamación de la mucosa del estómago, daño de mucosa, enfermedad de úlcera gastroduodenal, particularmente su profilaxis y tratamiento, y para el uso en la terapia de erradicación de *Helicobacter pylori*, eventualmente. en combinación con otros agentes activos idóneos, como antibióticos.
- 50

Figura 1

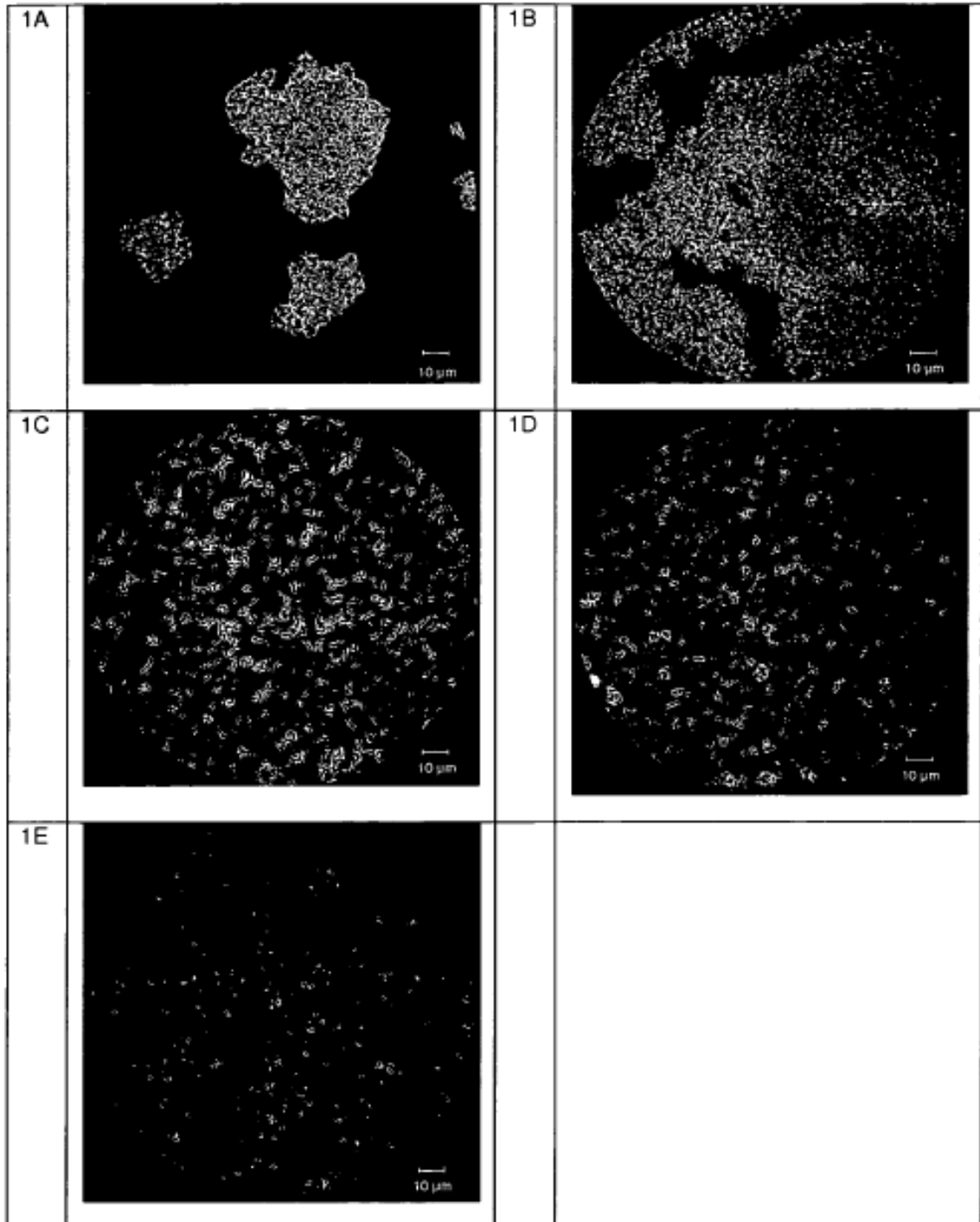


Figura 2:

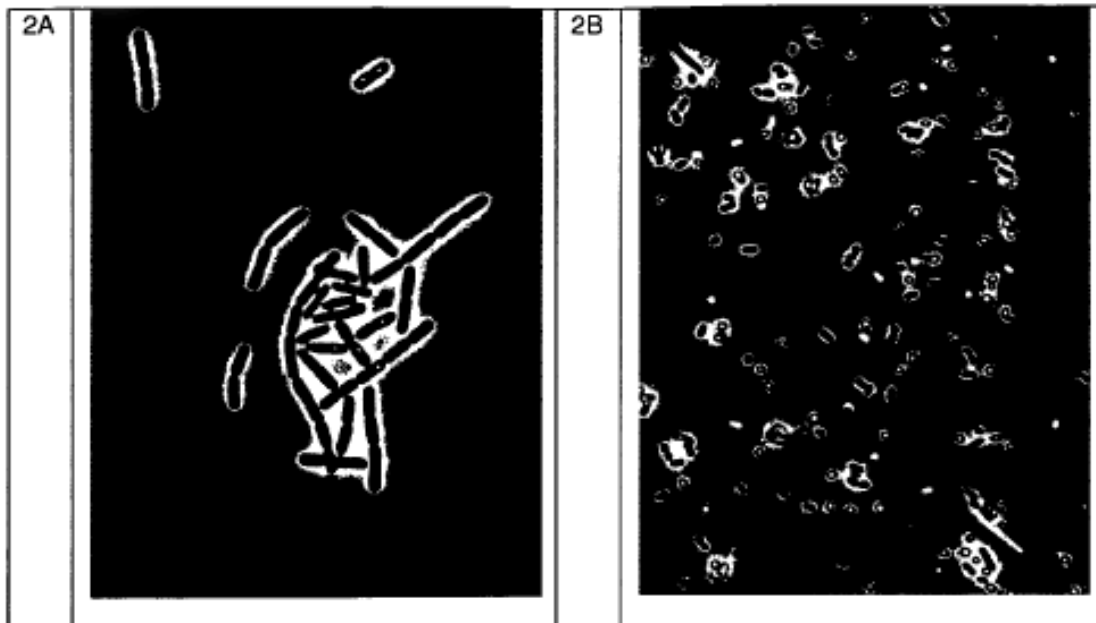


Figura 3:

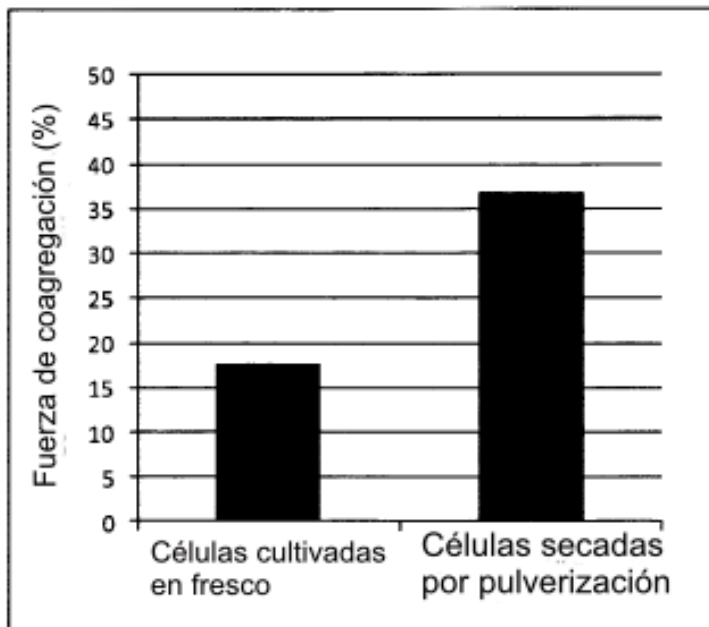


Figura 4:

