

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 310**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2015.01)

C12N 1/04 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

A23L 33/135 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2015 PCT/GB2015/054112**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.06.2016 WO16102950**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2015 E 15817513 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 3065748**

54 Título: **Una cepa de bacteroides thetaiotaomicron y su uso en la reducción de la inflamación**

30 Prioridad:

23.12.2014 GB 201423084

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

09.03.2018

73 Titular/es:

**4D PHARMA RESEARCH LIMITED (100.0%)
Life Sciences Innovation Building Cornhill Road
Aberdeen AB25 2ZS, GB**

72 Inventor/es:

**PATTERSON, ANGELA MARGARET;
GRANT, GEORGE y
MULDER, IMKE**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 658 310 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).

Una cepa de bacteroides *thetaitaomicron* y su uso en la reducción de la inflamación

Descripción

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a microorganismos que son capaces de modular positivamente trastornos inflamatorios y que pueden ser usados en terapia o medicina preventiva.

10 Antecedentes de la invención

[0002] El bacterioides *thetaitaomicron* tiene potentes efectos antiinflamatorios *in vitro* e *in vivo* (Kelly et al. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. Nat Immunol. 2004 Jan; 5 (1): 104-12). Modula las vías de señalización molecular de NF-κB (Kelly y col., Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. Nat Immunol. 2004 Jan; 5 (1): 104-12). En particular, detiene la unión del componente activo (RelA) de NF-κB a los genes clave en el núcleo, evitando así la activación de las vías proinflamatorias (Kelly et al, Supra 2004). El genoma completo de *B. thetaitaomicron* fue secuenciado y anotado por Gordon Group (Washington University School of Medicine, EE. UU.) En 2003 [Xu et al, A genomic view of the human-Bacteroides thetaitaomicron symbiosis. Science. 2003 Mar 28; 299 (5615): 2074-6]. Moran, 2014 (Microbial Wealth, Innovation Chemistry and Industry, vol. 78, n.º 6, páginas 20-23, 1 de junio de 2014) analiza las oportunidades para la explotación comercial del microbioma y en este contexto se refiere a un bioterapéutico vivo que consiste de una sola especie, *Bacteroides thetaitaomicron*, como tratamiento para la enfermedad de Crohn pediátrica. El documento WO 03/046580 describe el uso de *Bacteroides thetaitaomicron* en general como un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Resumen de la invención

[0003] La presente invención se basa en el descubrimiento de una cepa de *Bacteroides thetaitaomicron* (BT) que tiene una eficacia sorprendente contra trastornos inflamatorios. En consecuencia, la cepa de BT es útil como una medicina terapéutica o preventiva contra los trastornos inflamatorios y/o los trastornos autoinmunes y/o los trastornos alérgicos.

[0004] Según un primer aspecto de la invención, hay una *thetaitaomicron Bacteroides* depositada como número de acceso NCIMB 42.341.

[0005] De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, hay una composición que comprende un *Bacteroides thetaitaomicron* como se define en el aspecto 1.

[0006] De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, hay una composición farmacéutica que comprende un *Bacteroides thetaitaomicron* como se define en el aspecto 1.

[0007] De acuerdo con un cuarto aspecto de la invención, hay un suplemento nutricional que comprende una *Bacteroides thetaitaomicron* como se define en el aspecto 1, y un excipiente, vehículo o diluyente nutricionalmente aceptable.

[0008] De acuerdo con un quinto aspecto de la invención, es un alimento, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario que comprende un *Bacteroides thetaitaomicron* como se define en el aspecto 1. De acuerdo con un sexto aspecto de la invención, un *Bacteroides thetaitaomicron* según se define en el aspecto 1, una composición tal como se define en el aspecto 2, una composición farmacéutica tal como se define en el aspecto 3, un complemento nutricional tal como se define en el aspecto 4 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético o un aditivo alimentario como se define en aspecto 5, para uso en la reducción de la inflamación de un tejido o un órgano en un sujeto.

[0009] De acuerdo con un séptimo aspecto de la invención, un *Bacteroides thetaitaomicron* como se define en el aspecto 1, una composición como se define en el aspecto 2, una composición farmacéutica como se define en aspecto 3, un suplemento nutricional como se define en aspecto 4 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético o un aditivo alimentario como se define en el aspecto 5, para uso en el tratamiento y/o prevención de un trastorno en un sujeto; donde dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

[0010] De acuerdo con un octavo aspecto de la invención, un *Bacteroides thetaitaomicron* como se define en el aspecto 1, una composición como se define en el aspecto 2, una composición farmacéutica como se define en aspecto 3, un suplemento nutricional como se define en aspecto 4 o un alimento, un producto alimenticio, un suplemento dietético o un aditivo alimentario como se define en el aspecto 5 para uso en la reducción de la disrupción en el colon de un sujeto, preferiblemente dicho sujeto tiene EII.

[0011] De acuerdo con un noveno aspecto de la invención, un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en el aspecto 1, una composición como se define en el aspecto 2, una composición farmacéutica como se define en el aspecto 3, un suplemento nutricional como se define en el aspecto 4 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético o un aditivo alimentario como se define en el aspecto 5 para uso en la reducción de la expresión de uno o más genes proinflamatorios en una célula o células de un sujeto.

[0012] De acuerdo con un décimo aspecto de la invención, un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en el aspecto 1, una composición como se define en el aspecto 2, una composición farmacéutica como se define en el aspecto 3, un suplemento nutricional como se define en el aspecto 4 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético o un aditivo alimentario como se define en el aspecto 5 para su uso en el aumento del porcentaje de células T reguladoras (Tregs) en el canal alimentario o en una sección del canal alimentario.

[0013] De acuerdo con un undécimo aspecto de la invención, un procedimiento para producir una composición farmacéutica de acuerdo con el aspecto 3, comprendiendo dicho procedimiento mezclar dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, en el que dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* es opcionalmente encapsulado en dicho proceso.

Breve descripción de las figuras

[0014] La invención se describe con referencia a las figuras adjuntas, en donde:

Figura 1: ilustra la atenuación de la colitis a través de la expansión de las células Treg con la cepa *B. thetaiotaomicron* BT2013 en un modelo de colitis inducido por DSS.

Figura 2: ilustra que la cepa BT2013 de *B. thetaiotaomicron* no influye en las células Treg, pero influye en las células Teff, en ratones convencionales;

Figura 3: ilustra la actividad de la mieloperoxidasa (MPO) en el íleon (a) y ciego (b) de los ratones dosificados con DSS con o sin una ingesta diaria de *B. thetaiotaomicron*

Figura 4: ilustra la histopatología en el colon ascendente de ratones hembra C57Bl/6 dosificados con DSS (a) o DSS y *B. thetaiotaomicron* (b)

Figura 5: ilustra las puntuaciones medias de tejido histopatológico para el colon ascendente a partir de ratones colonizados con cepas *B. thetaiotaomicron* de E1 y BT2013 durante la colitis inducida por DSS;

Figura 6: ilustra la expresión de genes proinflamatorios (IL-1 β e IL-6) y gen antiinflamatorio (IL-10) en el colon ascendente de ratones tratados con cepas de *B. thetaiotaomicron* E1, E2 y BT2013;

Figura 7: ilustra la expresión de IL-8 en células Caco-2 incubadas con PMA y células medianas o bacterianas E1, E2 y BT2013.

Descripción detallada de la invención

[0015] La presente invención se basa en el hallazgo de que la cepa de Bt BT2013 tiene efectos antiinflamatorios más potentes en comparación con el control de las cepas de Bt.

[0016] La cepa BT2013 de BT se ha depositado con el número de acceso 42341 el 3 de diciembre de 2014 en las Colecciones Nacionales de Bacterias Industriales, Alimentarias y Marinas (NCIMB) en NCIMB Ltd, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Reino Unido, AB21 9YA. El depósito se hizo bajo los términos del Tratado de Budapest. El depósito fue realizado por GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Escocia). GT Biologics Ltd. posteriormente cambió su nombre a 4D Pharma Research Limited.

Derivado

[0017] La presente descripción abarca derivados de la cepa depositada. El término "derivado" incluye cepas hijas (progenie) o manchas cultivadas (subclonadas) del original pero modificadas de alguna forma (incluso a nivel genético), sin alterar negativamente la actividad biológica, es decir, la cepa derivada tendrá al menos la misma actividad moduladora inmune como la cepa BT2013 original.

Biotipos

[0018] También se espera que las cepas bacterianas que son biotipos de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341 sean eficaces para tratar o prevenir trastornos inflamatorios y/o trastornos autoinmunes y/o trastornos alérgicos. Un biotipo es una cepa estrechamente relacionada que tiene las mismas o muy similares características fisiológicas y bioquímicas.

[0019] En ciertas realizaciones descritas en este documento, la cepa bacteriana para uso en la divulgación tiene una secuencia de ARNr 16S que es al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 99,9% idéntico a la secuencia de ARNr de 16s de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341.

[0020] Alternativamente, cepas que son biotipos de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341

y que son adecuadas para su uso en la divulgación pueden ser identificadas por secuenciación de otras secuencias de nucleótidos para la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341. Por ejemplo sustancialmente todo el genoma puede ser secuenciado y una cepa de biotipo para su uso en la divulgación puede tener al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 99,9% de identidad de secuencia a través de al menos el 80% de la totalidad de su genoma (por ejemplo a través de al menos 85%, 90%, 95% o 99%, o a través de todo su genoma). Otras secuencias adecuadas para uso en la identificación de cepas de biotipo pueden incluir hsp60 o secuencias repetitivas tales como caja, ERIC, (GTG)₅ o REP (Masco et al. (2003) Systematic and Applied Microbiology, 26: 557-563). Cepas de biotipo pueden tener secuencias con al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 99,9% de identidad de secuencia con la secuencia correspondiente de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341.

[0021] Alternativamente, las cepas que son biotipos de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341 y que son adecuadas para su uso en la divulgación pueden ser identificadas utilizando el número de acceso de depósito NCIMB 42341 y análisis de fragmentos de restricción y/o análisis de PCR, por ejemplo mediante el uso de polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados fluorescente (FAFLP) y huella digital (rep)-PCR de elemento de ADN repetitivo, o perfiles de proteínas, o la secuenciación parcial de 16S o ADNr 23S.

[0022] En ciertas realizaciones, cepas que son biotipos de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341 y que son adecuadas para su uso en la divulgación son cepas que proporcionan el mismo patrón que la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341 cuando se analizaron por análisis de restricción de ADN ribosomal amplificado (ARDRA), por ejemplo, al utilizar la enzima de restricción Sau3AI (para métodos y orientación ejemplares véase, por ejemplo, Srutková et al. (2011) J. Microbiol. Methods, 87 (1): 10-6). Alternativamente, las cepas de biotipo son identificadas como cepas que tienen los mismos patrones de fermentación de carbohidratos como la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341.

[0023] Las cepas bacterianas que son biotipos de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341 y que son útiles en las composiciones y los métodos de la descripción pueden ser identificados utilizando cualquier método o estrategia apropiada. Por ejemplo, las cepas bacterianas que tienen patrones similares de crecimiento, tipo metabólico y/o antígenos de superficie de la bacteria depositada bajo el número de acceso NCIMB 42341 pueden ser útiles en la divulgación. Una cepa de biotipo tendrá actividad moduladora inmune comparable a la cepa NCIMB 42341. Por ejemplo, una cepa de biotipo provocará efectos comparables sobre los modelos de colitis inducida por DSS y efectos comparables sobre los niveles de Treg, actividad MPO enzimática, la expresión del gen asociado con la inflamación y la histopatología de colon a los efectos que aparecen en los ensayos funcionales, que pueden ser identificados usando los protocolos descritos en los ensayos funcionales.

Trastornos

[0024] La cepa *Bacteroides thetaiotaomicron* BT2013 puede usarse para el tratamiento y/o prevención de un trastorno en un sujeto, en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune.

[0025] En una realización, el trastorno afecta el canal alimentario, una sección del tubo digestivo, el hígado, las células del hígado, células inmunes, células epiteliales, células epidérmicas, células neuronales, células endoteliales, fibroblastos, el páncreas, y/o células pancreáticas (tales como los islotes de Langerhans).

[0026] Los ejemplos de las secciones (es decir, partes) del canal alimentario incluyen el esófago, el estómago y el intestino (tal como el intestino delgado (por ejemplo, el duodeno, el yeyuno y el íleon) y/o el intestino grueso (por ejemplo, el ciego, colon ascendente, colon transversal, colon descendente y colon sigmoide)).

[0027] Los ejemplos de células epiteliales incluyen las células epiteliales intestinales. Ejemplos de células del sistema inmune incluyen células dendríticas, monocitos/macrófagos, células T y neutrófilos.

[0028] En una realización, el trastorno se selecciona de entre el grupo que consiste en:

1. Trastornos de los órganos asociados tales como el síndrome del intestino irritable (IBS), enfermedad inflamatoria del intestino incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, enterocolitis necrotizante, la pouchitis, la enfermedad celíaca, la esclerosis múltiple (cerebro), diabetes tipo I, síndrome de Goodpasture, la tiroiditis de Hashimoto, hepatitis activa crónica, miocardiopatía, uveítis y rinitis.

2. Trastornos sistémicos tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, psoriasis, dermatitis atópica, vitiligo, la esclerosis múltiple, la alopecia areata, sarcoidosis, polimiositis y combinaciones de los mismos.

[0029] En un aspecto, el trastorno afecta el intestino.

[0030] En un aspecto, el trastorno es un trastorno inflamatorio. Por ejemplo, el trastorno es un trastorno de intestino inflamatorio (EII) como la enfermedad de Crohn.

[0031] En un aspecto, el trastorno es un trastorno autoinmune. Por ejemplo, el trastorno autoinmune se selecciona entre el grupo que consiste en colitis ulcerosa, pouchitis, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, alergias (incluyendo la enfermedad celíaca), dermatitis atópica y rinitis.

5 **Sujeto**

[0032] En una realización, el sujeto es un animal monogástrico.

10 [0033] Los ejemplos de los animales monogástricos incluyen aves de corral, los seres humanos, ratas, cerdos, perros, gatos, caballos y conejos.

[0034] En otra realización, el sujeto es un mamífero tal como un mamífero monogástrico.

15 [0035] Los ejemplos de mamíferos monogástricos incluyen omnívoros (tales como seres humanos, ratas y cerdos), carnívoros (tales como perros y gatos), y herbívoros (como caballos y conejos).

[0036] Preferiblemente, el sujeto es un humano.

20 [0037] En un aspecto, el sujeto tiene un trastorno está seleccionado del grupo que consiste en trastorno intestinal inflamatorio (EII), colitis, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedad celíaca, dermatitis atópica, rinitis, síndrome del intestino irritable (IBS), la colitis ulcerosa, la pouchitis, la enfermedad de Crohn, dispepsia funcional, enfermedades atópicas, enterocolitis necrotizante, enfermedad de hígado graso no alcohólico, la infección gastrointestinal y combinaciones de los mismos. Por ejemplo, el sujeto tiene EII.

25 **Modulación/regulación**

[0038] Los términos "modulación" y "regulación" se pueden usar indistintamente en el presente documento.

30 [0039] En una realización, la cepa *B. thetaiotaomicron* BT2013 se utiliza para modular la inflamación de una célula, un tejido o un órgano en un sujeto.

[0040] En una realización, el término "modulación" se refiere a un aumento y/o la inducción y/o la promoción y/o activación. En una realización alternativa, el término "modulación" se refiere a una disminución y/o reducción y/o inhibición.

35 [0041] En una realización, el término "regulación" se refiere a una regulación al alza. En una realización alternativa, el término "regulación" se refiere a una regulación a la baja.

40 [0042] En una realización, la cepa *B. thetaiotaomicron* BT2013 como se describe en el presente documento reduce la inflamación de una célula, un tejido o un órgano. Por ejemplo, la inflamación del tubo digestivo, una sección (es decir, parte) del canal alimentario (tal como el intestino), el hígado, las células del hígado, células epiteliales, células epidérmicas, células neuronales, células endoteliales, fibroblastos, el páncreas, y/o células pancreáticas (tales como los islotes de Langerhans) se reduce.

45 [0043] En un ejemplo, la inflamación del tubo digestivo o parte del mismo (tal como el intestino) se reduce.

[0044] En otro ejemplo, se reduce la inflamación por las células inmunes del tejido o el órgano.

50 [0045] En otro ejemplo, se reduce la inflamación por las células epiteliales del tejido o el órgano.

[0046] El término "inflamación", como se usa aquí se refiere a uno o más de los siguientes: enrojecimiento, hinchazón, dolor, sensibilidad, calor, y la función de una célula, un tejido u órgano perturbado debido a un proceso inflamatorio provocado por la sobre-reacción del sistema inmune.

55 [0047] En una realización, el número de células que están inflamadas en un sujeto es al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más bajo después de la administración del polipéptido o célula de polinucleótido o hésped tal como se describe en el presente documento cuando se compara a los números de células que están inflamadas en un sujeto antes de la cepa BT2013 como se describe en el presente documento se administra al sujeto.

60 [0048] En una realización, la cantidad de un tejido u órgano que se inflama en un sujeto es al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más baja después de la administración de la cepa BT2013 cuando se compara con la cantidad de tejido u órgano que se inflama en un sujeto antes de la cepa BT2013 se administra al sujeto.

[0049] En una realización, la cepa BT2013 reduce la inflamación por las células epiteliales del tejido o el órgano.

65 [0050] Por ejemplo, las células epiteliales son células epiteliales del canal alimentario o parte del mismo (tal como el

intestino grueso).

5 [0051] Sin desear estar ligado por la teoría, la cepa BT2013 aumenta la producción de células T (como células T reguladoras que también pueden ser denominadas Tregs) en un sujeto. Este aumento en los números de Treg puede combatir los efectos de otras células T efectoras (también denominadas Teffs), tales como Th1, Th17 y Th2 que impulsan la inflamación, la autoinmunidad y condiciones alérgicas/atópicas. En la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa se pierde el equilibrio de células Teff/Treg.

10 [0052] En una realización, la producción de células T en un individuo se incrementa de tal manera que hay al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% de células T más, o más que 100% más células T después de la administración del polipéptido o célula de polinucleótido o huesped tal como se describe en el presente documento cuando se compara con el número de células T en el sujeto antes de administrarse la cepa BT2013 al sujeto.

15 **Integridad de la barrera del intestino**

[0053] En una realización, la cepa BT2013 se utiliza para mejorar la integridad de la barrera intestinal en un sujeto.

20 [0054] El término "mejorar la integridad de la barrera intestinal" como se utiliza aquí se refiere a una reducción en el número y/o tipos de microorganismos que se propagan desde el intestino en otras células en un sujeto después de la administración de la cepa BT2013 en comparación con los números y/o tipos de microorganismos que se propagan desde el intestino en otras células en un sujeto antes de la administración de la cepa BT2013 como se describe en el presente documento.

25 [0055] En una realización, el número de microorganismos que se propagan desde el intestino en otras células en un sujeto son al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más bajo después de la administración de la cepa BT2013 en comparación con el número de microorganismos que se propagan desde el intestino en otras células en una administración de sujeto.

30 [0056] En una realización, hay al menos 5%, 10%, 15% o 20% menos tipos de microorganismos que se propagan desde el intestino en otras células en un sujeto después de la administración de la cepa BT2013 en comparación con los tipos de microorganismos que se extendió desde el intestino en otras células en un sujeto antes de la administración.

35 **Interrupción de intestino**

[0057] En una cepa BT2013 de forma de realización, se usa para reducir la interrupción al intestino (por ejemplo, intestino grueso) de un sujeto (tal como un sujeto con IBD).

40 [0058] El término "interrupción en el intestino de un sujeto" como se usa en este documento se refiere a un efecto en la integridad del epitelio de la mucosa y/o un efecto en el número de células calciformes en el epitelio y/o un efecto en el número de células inmunes que infiltran la lámina propia.

45 [0059] En una realización, la cepa BT2013 reduce o evita la interrupción de la integridad del epitelio de la mucosa y/o reduce o previene una reducción en el número de células calciformes en el epitelio y/o reduce o previene la infiltración de células inmunes en la lámina propia.

50 [0060] En una realización, una reducción en la interrupción de la integridad del epitelio de la mucosa es una reducción de al menos 5%, 10%, 15% o 20% en el número de bacterias que cruzan desde el lumen intestinal en células intestinales después de la administración de cepa BT2013 cuando se compara con el número de bacterias que cruzan desde el lumen intestinal en las células intestinales en un sujeto antes de la administración.

55 [0061] En una realización, una reducción en el número de células calciformes en el epitelio es una reducción de al menos 2%, 5%, 10%, 15% o 20% en el número de células calciformes en el epitelio de un sujeto después de la administración de cepa BT2013 en comparación con el número de células calciformes en el epitelio de un sujeto antes de la administración.

60 [0062] En una realización, la reducción de la infiltración de células inmunes en la lámina propia es tal que durante un período de tiempo fijo (tal como 24 horas) hay una reducción de al menos 5%, 10%, 15%, 20 % o 30% en el número de células inmunes (por ejemplo, células T) que cruzan en las células de la lámina propia después de la administración de la cepa BT2013 cuando se compara con el número de células inmunes (por ejemplo, células T) de cruce en la lámina propia en un sujeto antes de la administración.

Genes proinflamatorios y genes de integridad de barrera

65 [0063] En una realización, la cepa BT2013 se usa para regular la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios y/o uno o más genes de integridad de barrera en una célula o células de un sujeto.

[0064] En una realización, el término "regular" se refiere a una regulación al alza en la expresión de uno o más genes proinflamatorios. En una realización alternativa, el término "regular" se refiere a una regulación a la baja en la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios.

5 **[0065]** En una realización, la cepa BT2013 regula a la baja la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios en una célula o células de un sujeto.

10 **[0066]** El término "gen pro-inflamatorio" tal como se utiliza aquí se refiere a un gen que, cuando se expresa, promueve la inflamación. Ejemplos de genes pro-inflamatorios incluyen genes que codifican pero no limitan a IL1- β , IL4, IL5, IL6, IL8, IL12, IL13, IL17, IL21, IL22, IL23, IL27, IFN, CCL2, CCL3, CCL5, CCL20, CXCL5, CXCL10, CXCL12, CXCL13, y TNF- α .

[0067] En una realización, el gen pro-inflamatorio se selecciona del grupo que consiste de IL1- β , IL6 y IL8.

15 **[0068]** En una realización, el nivel de expresión (por ejemplo, nivel de ARNm) de uno o más genes pro-inflamatorios se disminuye (es decir se regula hacia abajo) tal que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más bajo después de la administración de la cepa BT2013 cuando se compara con el nivel en el sujeto antes de la administración.

20 **[0069]** El término "genes de integridad de barrera" como se utiliza aquí se refiere a un gen que, cuando se expresa, tiene un papel en la función de la barrera del intestino, tales como la reparación de la barrera y la prevención de que los microorganismos crucen la barrera. Ejemplos de genes de integridad de barrera incluyen genes que codifican Retnlg|Retnlb, Si, Defa24, HSD11B2, Hsd17b2, y NR1D1|Thra.

25 **[0070]** En una realización, el término "regular" se refiere a una regulación al alza en la expresión de uno o más genes de integridad de barrera. En una realización alternativa, el término "regular" se refiere a una regulación a la baja en la expresión de uno o más genes de integridad de barrera.

30 **[0071]** En una realización, la cepa BT2013 regula hacia arriba la expresión de genes de integridad de barrera en una célula o células de un sujeto.

[0072] En una realización, el gen de la integridad de la barrera se selecciona del grupo que consiste en Retnlg|Retnlb, Si, Defa24, HSD11B2, Hsd17b2, y NR1D1|Thra.

35 **[0073]** En una realización, el nivel de expresión (por ejemplo, nivel de ARNm) de uno o más genes de integridad de barrera se incrementa (es decir, se regula hacia arriba) tal que el nivel es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% mayor después de la administración de cepa BT2013 en comparación con el nivel en el sujeto antes de la administración.

40 **Canal alimenticio**

[0074] Las partes del canal alimentario incluyen el esófago, el estómago y el intestino (tal como el intestino delgado (por ejemplo, el duodeno, el yeyuno y el íleon) y/o el intestino grueso (por ejemplo, el intestino ciego, colon ascendente, colon transverso, el colon descendente y colon sigmoide)).

45 **[0075]** En este documento, el término "intestino grueso" se puede usar indistintamente con el término "dos puntos".

[0076] En una realización, la cepa BT2013 se utiliza para mejorar la salud de canal alimentario en un sujeto.

50 **[0077]** El término "mejorar la salud del canal alimentario" tal como se utiliza aquí se refiere a la reducción del nivel de inflamación en el canal alimentario o parte del mismo y/o mejorar la microbiota intestinal.

55 **[0078]** En una realización, el nivel de inflamación en el canal alimentario es de al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más bajo después de la administración de la cepa BT2013 cuando se compara con el nivel de inflamación en el tubo digestivo de un sujeto antes de la administración.

[0079] En una realización, la cepa BT2013 se utiliza para mejorar la microbiota intestinal en un sujeto.

60 **[0080]** El término "microbiota intestinal" tal como se utiliza aquí se refiere a microorganismos que viven en el tracto digestivo de los animales hospedadores. Estos microorganismos realizan una amplia variedad de funciones beneficiarias metabólicas, estructurales, de protección y otras.

65 **[0081]** Tal como se utiliza aquí, el término "mejorar microbiota intestinal" se refiere al aumento en el número y/o tipo de microorganismos deseables presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), y/o el aumento de la actividad de dichos microorganismos deseables en términos de sus metabólicos, funciones beneficiarias estructurales, de protección y de otro tipo. El término "mejorar microbiota intestinal" también puede referirse a

disminuir el número y/o tipo de microorganismos indeseables presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), y/o disminuir la actividad de dichos microorganismos indeseables en términos de sus funciones metabólicas, beneficiarias estructurales, de protección y de otro tipo.

5 **[0082]** Los microorganismos que son deseables en el intestino de un huésped son aquellos microorganismos que tienen una función protectora y beneficiaria. Bacterias de firmicutes y bacteroidetes son ejemplos de microorganismos deseables en el intestino de un huésped.

10 **[0083]** Los microorganismos que no son deseables en el intestino de un huésped son aquellos microorganismos que pueden interferir con las funciones metabólicas, estructurales, de protección, y otras beneficiarias de los microorganismos deseables en el intestino tienen una función protectora y beneficiaria. Además o alternativamente, los microorganismos no deseables son los que causan, por ejemplo, inflamación y/o diarrea. *E. coli* es un ejemplo de un microorganismo indeseable en el intestino de un huésped.

15 **[0084]** Por ejemplo, un cambio en el equilibrio de la microbiota entre el microorganismo deseable (tal como bacterias firmicutes y bacteroidetes) y microorganismos no deseados (tales como *E. coli*: ETEC, EPEC, EIEC, EHEC y CEEA) dentro del intestino pueden ocurrir en sujetos con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) una vez que la cepa BT2013 se ha administrado al sujeto.

20 **[0085]** En una realización, el número de microorganismos deseables (tales como bacterias firmicutes y bacteroidetes) presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), se incrementa de tal manera que el número de microorganismos es por lo menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más alto, o mayor que 100% más alto después de la administración de la cepa BT2013 en comparación con el nivel en el sujeto antes de la administración. Además, o alternativamente, los tipos de microorganismos deseables (tales como firmicutes y bacteroidetes) presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), se aumentan de tal manera que hay al menos 2%, 5%, 10%, o 15 % más tipos de microorganismos después de la administración de cepa BT2013 en comparación con los tipos en el sujeto antes de la administración.

30 **[0086]** En una realización, el número de microorganismos no deseables (tales como *E. Coli* ETEC, EPEC, EIEC, EHEC y CEEA) presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), se reduce de tal manera que el número de microorganismos es al menos 10%, 20%, 30%, 40% o 50% más bajo después de la administración de cepa BT2013 en comparación con el nivel en el sujeto antes de la administración. Además, o alternativamente, los tipos de microorganismos no deseables (tales como *E. Coli* ETEC, EPEC, ECEI, EHEC y CEEA) presentes en el intestino de un sujeto (por ejemplo, el huésped), se reducen de tal manera que hay al menos 1%, 2%, 5%, o 10%, menos tipos de microorganismos no deseados después de la administración de cepa BT2013 en comparación con los tipos en el sujeto antes de la administración.

Encapsulación

40 **[0087]** En una realización, la cepa BT2013 de *B. thetaiotaomicron* está encapsulada.

[0088] En una realización adicional, una composición farmacéutica que comprende la cepa BT2013 está encapsulada.

45 **[0089]** En otra realización, un suplemento nutricional que comprende la cepa BT2013 está encapsulado.

[0090] En una realización adicional, un pienso, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario como se describe aquí, está encapsulado.

50 **[0091]** El término "encapsulado", como se usa aquí, se refiere a un medio para la protección de la cepa BT2013 de un entorno incompatible por separación física de modo que pueda ser administrado al sitio diana (por ejemplo, el intestino) sin degradación o degradación significativa con el fin de que la cepa BT2013 tenga un efecto en el sitio de destino. Un ejemplo es una cápsula con recubrimiento entérico o una cápsula entérica resistente.

55 **[0092]** Incluso cuando el objetivo de la encapsulación es el aislamiento de la cepa de su entorno, la capa protectora o de concha debe romperse en el momento de acción deseada. La ruptura de la capa protectora o cubierta típicamente se produce a través de la aplicación de estímulos químicos y físicos tales como presión, ataque enzimático, reacción química y desintegración física.

60 **[0093]** Por ejemplo, la encapsulación asegura que la cepa pueda ser ingerida de manera que los microorganismos pueden ser administrados al sitio diana (por ejemplo, el intestino) en una cantidad que es eficaz para producir un efecto en el sitio diana.

Composición farmacéutica

65 **[0094]** En una realización, una composición farmacéutica que comprende microorganismos de la cepa BT2013 y

opcionalmente un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

5 [0095] La composición farmacéutica puede ser cualquier composición farmacéutica. En un aspecto, la composición farmacéutica se va a administrar por vía oral, por vía enteral o por vía rectal. Por ejemplo, la composición puede ser una composición comestible. "Comestible" significa un material que está aprobado para el consumo humano o animal.

[0096] Las composiciones farmacéuticas pueden ser para uso humano o animal en medicina humana y veterinaria.

10 [0097] Los ejemplos de tales excipientes adecuados para las diversas formas diferentes de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden encontrar en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª edición, (1994), editado por A Wade y PJ Weller.

15 [0098] Portadores o diluyentes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Pharmaceutical Sciences de Remington, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro edit. 1985).

[0099] Los ejemplos de vehículos adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares.

20 [0100] Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen uno o más de: agua, etanol, glicerol, propilenglicol y glicerina, y combinaciones de los mismos

25 [0101] La elección del vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración prevista y práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como portador, excipiente o diluyente, o además de los mismos, cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento, agente solubilizante.

30 [0102] Ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietileno glicol.

[0103] Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico y similares.

35 [0104] Los conservantes, estabilizantes, colorantes e incluso agentes aromatizantes pueden proporcionarse en la composición farmacéutica. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato sódico, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. Los antioxidantes y agentes de suspensión también pueden usarse.

40 [0105] En un aspecto, se encapsulan los microorganismos de la composición farmacéutica de cepa BT2013.

[0106] La farmacéutica puede estar en forma de una solución o como un sólido - en función de la utilización y/o el modo de aplicación y/o el modo de administración.

45 [0107] Tal como se utiliza aquí, el término "medicamento" abarca medicamentos para el uso tanto humano como animal en medicina humana y veterinaria. Además, el término "medicamento", como se usa en este documento significa cualquier sustancia, que proporciona un efecto terapéutico y/o beneficioso. El término "medicamento", como se usa en el presente documento no se limita necesariamente a las sustancias, que necesitan la aprobación de comercialización, sino que puede incluir sustancias que se pueden utilizar en cosméticos, nutracéuticos, alimentos (incluyendo alimentos y bebidas, por ejemplo), cultivos probióticos, suplementos nutricionales y remedios naturales. 50 Además, el término "medicamento", como se usa en este documento abarca un producto diseñado para su incorporación en la alimentación animal, por ejemplo de alimentación de ganado y/o alimentos para mascotas.

Suplementos nutricionales

55 [0108] Portadores nutricionalmente aceptables, diluyentes y excipientes incluyen los adecuados para el consumo humano o animal y que se utilizan como estándar en la industria alimentaria. Vehículos, diluyentes y excipientes típicos aceptables nutricionalmente serán familiares para la persona experta en la técnica.

60 [0109] En una realización, un suplemento nutricional comprende microorganismos de la cepa BT2013 o una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende dicha secuencia de polinucleótidos, y un excipiente, vehículo o diluyente nutricional.

[0110] En un ejemplo, se encapsulan los microorganismos de la cepa BT2013.

65 **Piensos/productos**

[0111] Un aspecto adicional de la invención se refiere a piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos y aditivos alimentarios que comprenden los microorganismos de la cepa BT2013.

5 **[0112]** Los términos "alimento", "producto alimenticio" "aditivo alimentario" y "suplemento dietético" como se usa en el presente documento están destinados a cubrir todos los productos consumibles que pueden ser sólidos, en gelatina o líquido.

10 **[0113]** El término "producto alimenticio" se usa en un sentido amplio - y cubre alimentos para seres humanos así como alimentos para animales (es decir, un pienso). En un aspecto, el producto alimenticio es para el consumo humano. Ejemplos de productos alimenticios incluyen productos lácteos (tales como leche, queso, bebidas que comprenden proteína de suero, bebidas de leche, bebidas de bacterias del ácido láctico, yogur, yogur para beber), productos de panadería, bebidas y polvos para bebidas.

15 **[0114]** El "alimento", "producto alimenticio" "aditivo alimentario" y "suplemento dietético" puede ser en forma de una solución o como un sólido - en función de la utilización y/o el modo de aplicación y/o el modo de la administración.

20 **[0115]** Tal como se utiliza aquí, el término "suplemento dietético" incluye una formulación que es o puede añadirse a un producto alimenticio o pienso como un suplemento nutricional. El término "suplemento dietético" tal como se utiliza aquí también se refiere a formulaciones que pueden utilizarse a niveles bajos en una amplia variedad de productos que requieren gelificante, texturización, estabilizantes, de suspensión, formación de película y estructuración, la retención de jugosidad y mejor sensación en la boca, sin la adición de la viscosidad.

25 **[0116]** Productos alimenticios adecuados pueden incluir, por ejemplo, productos funcionales de alimentos, composiciones de alimentos, alimentos para mascotas, alimento para ganado, alimentos saludables, alimentos para animales y similares. En un aspecto, el producto alimenticio es un alimento saludable.

30 **[0117]** Tal como se utiliza aquí, el término "producto alimenticio funcional" significa comida que es capaz de proporcionar no sólo un efecto nutricional, pero también es capaz de suministrar un efecto beneficioso adicional al consumidor. Por consiguiente, los alimentos funcionales son alimentos ordinarios que tienen incorporados componentes o ingredientes (tales como los descritos en el presente documento) que imparten a la comida un beneficio funcional específico - por ejemplo, médico o fisiológico - con excepción de un efecto puramente nutritivo.

35 **[0118]** Ejemplos de productos específicos de alimentos que son aplicables a la presente invención incluyen productos a base de leche, postres listos para comer, polvos para reconstitución con, por ejemplo, leche o agua, bebidas de leche de chocolate, bebidas de malta, platos listos para comer, platos instantáneos o bebidas para seres humanos o composiciones alimenticias que representan una dieta completa o parcial destinada a animales domésticos o ganado.

40 **[0119]** En un aspecto, el alimento, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario de acuerdo con la presente invención están destinados para los seres humanos, animales domésticos o de granja, tales como animales monogástricos. El alimento, producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario pueden estar destinados a animales seleccionados del grupo que consiste en perros, gatos, cerdos, caballos, o aves de corral. En otra forma de realización, el producto alimenticio, suplemento dietético o aditivo alimentario está dirigido a las especies adultas, en particular los humanos adultos.

45 **[0120]** El término "producto a base de leche" como se usa en este documento significa cualquier leche líquida o semisólida o producto a base de suero que tiene un contenido de grasa variable. El producto a base de leche puede ser, por ejemplo, leche de vaca, leche de cabra, leche de oveja, leche desnatada, leche entera, leche recombinada a partir de leche en polvo y suero de leche sin ningún procesamiento, o un producto procesado, tales como yogur, leche cuajada, requesón, leche agria, leche entera agria, suero de mantequilla y otros productos de leche agria. Otro grupo importante incluye bebidas de leche, tales como bebidas de suero de leche, leches fermentadas, leches condensadas, infantiles o leches para bebés; leches aromatizadas, helado; alimentos como los dulces que contienen leche.

50 **[0121]** Los piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de la presente invención pueden ser - o se pueden añadir a - suplementos alimenticios, también denominados aquí como suplementos dietéticos o nutricionales o aditivos alimentarios.

55 **[0122]** Los piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de acuerdo con la invención también se pueden usar en la alimentación animal (por ejemplo en la nutrición de cerdo), en particular en el período de destete temprano y creciente período de engorde. Se espera que los piensos productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios mejoren la función inmune, reduzcan y prevengan enfermedades infecciosas, beneficiosamente alteran la composición de la microbiota, y mejoran el crecimiento y el rendimiento de los animales, por ejemplo, mediante una mayor eficiencia de conversión del pienso.

60 **[0123]** En una realización, el alimento, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario se encapsula.

Producto bioterapéutico vivo

5 [0124] Los microorganismos de la cepa BT2013 se pueden usar en o como un producto bioterapéutico vivo (LBP).

10 [0125] En un aspecto, la LBP es una composición administrable por vía oral de bacterias metabólicamente activas, es decir, vivas y/o liofilizadas, o muertas por calor no viables, irradiadas o lisadas. La LBP puede contener otros ingredientes. La LBP puede ser administrada por vía oral, es decir, en forma de un comprimido, cápsula o polvo. La LBP puede comprender adicionalmente otras especies bacterianas, por ejemplo, las especies bacterianas *R. hominis*. Productos encapsulados son favorecidos para *R. hominis*, ya que es un anaerobio. Otros ingredientes (como la vitamina C, por ejemplo), pueden ser incluidos como eliminadores de oxígeno y sustratos (tales como los que mejoran la colonización y la supervivencia *in vivo*). Alternativamente, la LBP de la invención se puede administrar por vía oral como un producto alimenticio o nutricional, tal como leche o producto lácteo fermentado basado en suero de leche, o como un producto farmacéutico.

15 [0126] Una dosis diaria adecuada de las bacterias en la LBP es de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{12} unidades formadoras de colonias (CFU); por ejemplo, de aproximadamente 1×10^7 a aproximadamente 1×10^{10} CFU; en otro ejemplo de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{10} CFU.

20 [0127] En un aspecto, la LBP contiene las especies bacterianas y/o componentes celulares de las mismas, como ingredientes activos, en una cantidad de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{12} CFU/g, respecto al peso de la composición; por ejemplo, desde aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} CFU/g. Típicamente, una LBP se combina opcionalmente con al menos un compuesto prebiótico adecuado. Un prebiótico es normalmente un carbohidrato no digerible tal como un oligo- o polisacárido, o un alcohol de azúcar, que no se degrada ni se absorbe en el tracto digestivo superior. Prebióticos conocidos incluyen productos comerciales tales como inulina y transgalacto-oligosacáridos.

25 [0128] En un aspecto, la LBP de la presente descripción incluye un prebiótico en una cantidad de desde aproximadamente 1 a aproximadamente 30% en peso, respecto a la composición peso total, (por ejemplo de 5 a 20% en peso). Los hidratos de carbono se pueden seleccionar de entre el grupo que consiste en: fructo-oligosacáridos (o FOS), fructo-oligosacáridos de cadena corta, inulina, isomaltoligosacáridos, pectinas, xilo-oligosacáridos (o XOS), quitosano-oligosacáridos (o COS), beta-glucanos, goma de cultivo modificada y almidones resistentes, polidextrosa, D-tagatosa, fibras de acacia, de algarroba, de avena y fibras de cítricos. En un aspecto, los prebióticos son fructo-oligosacáridos de cadena corta (para simplicidad se muestran en lo que sigue como FOS-cc); FOS-cc dichos no son hidratos de carbono digeribles, obtenidos generalmente mediante la conversión del azúcar de remolacha y que incluyen una molécula de sacarosa a la que se unen tres moléculas de glucosa.

Administración

40 [0129] Las composiciones farmacéuticas, los suplementos nutricionales, alimentos para animales, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de la presente invención se pueden adaptar para administración oral, rectal, vaginal, parenteral, intramuscular, intraperitoneal, intraarterial, intratecal, intrabronquial, subcutánea, intradérmica, intravenosa, nasal, bucal o sublingual de administración.

45 [0130] En un aspecto, las composiciones farmacéuticas, los suplementos nutricionales, alimentos para animales, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de la presente invención están adaptados para administración oral, rectal, vaginal, parenteral, nasal, bucal o sublingual de administración.

50 [0131] En un aspecto adicional, las composiciones farmacéuticas, los suplementos nutricionales, alimentos para animales, productos alimenticios, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios de la presente invención están adaptados para administración oral.

55 [0132] Para la administración oral, se hace uso particular de tabletas comprimidas, píldoras, tabletas, píldoras, gotas y cápsulas.

60 [0133] Otras formas de administración comprenden soluciones o emulsiones que se pueden inyectar por vía intravenosa, intraarterial, intratecal, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal o intramuscular, y que se preparan a partir de soluciones estériles o esterilizables. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden estar en forma de supositorios, pesarios y suspensiones. composiciones farmacéuticas, suplementos nutricionales, piensos, alimentos productos, suplementos dietéticos o aditivos alimentarios se pueden formular en forma de dosificación unitaria, es decir, en forma de porciones discretas que contienen una dosis unitaria, o una unidad múltiple o subunidad de una unidad dosis.

Dosificación

65 [0134] Una persona de experiencia ordinaria en la técnica puede determinar fácilmente una cantidad de dosificación

adecuada de la cepa BT2013 para administración a un sujeto sin experimentación excesiva. Típicamente, un médico determinará la dosis real que será la más adecuada para un paciente individual y dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad de la cepa empleada, la estabilidad metabólica y la duración de acción de esa cepa, la edad, el peso de cuerpo, salud general, sexo, dieta, modo y tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, la gravedad de la afección particular y el individuo que se somete a terapia. Las dosis descritas en este documento son ejemplares del caso medio. Puede haber, por supuesto, casos individuales en los que se requieran intervalos de dosificación mayores o menores, y están dentro del alcance de esta invención.

Combinaciones

[0135] En un aspecto, los microorganismos de cepa BT2013 se administran en combinación con uno o más de otros agentes activos. En tales casos, los microorganismos de la cepa BT2013 pueden administrarse consecutivamente, simultáneamente o secuencialmente con uno o más otros agentes activos.

Ensayos funcionales:

Modelo In Vivo

[0136] Ratones C57BL/6 (6 semanas de edad) se utilizaron para evaluar el efecto terapéutico de cepas *B. thetaiotaomicron* de E1, E2 y BT2013 durante la colitis inducida por DSS. Los ratones fueron colonizados con una de las cepas *B. thetaiotaomicron* antes del tratamiento con DSS. Los animales se sometieron a eutanasia y se realizó el muestreo de tejido intestinal. El intestino delgado se recogió para análisis inmunológico por citometría de flujo y las mediciones de actividad enzimática de la mieloperoxidasa enzimática (MPO). Colon ascendente se divide en partes iguales y se transfiere a la formalina tamponada neutra (NBF; Sigma-Aldrich) para el análisis histológico o RNAlater (Ambion) para el análisis molecular.

[0137] Se realizó el análisis de citometría de flujo de poblaciones de células T en lámina propia del intestino delgado (Figura 1 y Figura 2). DSS solo y tratamiento de *B. thetaiotaomicron* no afectó el porcentaje total de la población CD3+CD4+CD8-. Las poblaciones influenciadas por DSS solo y *B. thetaiotaomicron* fueron los Tregs (CD25+FoxP3+* y FR4^{hi}CD25+*) y las células Teff (FR4^{lo}CD25+*) (Figura 1 y 2). El porcentaje de células T reguladoras se aumentó en ratones tratados con cepa *B. thetaiotaomicron* BT2013 en comparación con DSS solo. La cepa E1W no parece tener ningún efecto sobre las células T reguladoras. (Figura 1). Los efectos de BT2013 en Tregs eran sólo aparentes en co-tratamiento de ratones con DSS. La cepa no tuvo efecto sobre Tregs en ratones no tratados pero tuvo influencia sobre la población de células Teff (Figura 2).

[0138] Se determinó la actividad enzimática de MPO en el íleon y ciego (Figura 3 a y 3b). MPO es una enzima proinflamatoria almacenada en los gránulos azurófilos de los granulocitos neutrófilos. MPO se utiliza como un indicador de inflamación, específicamente el reclutamiento de neutrófilos y la acumulación. Los niveles más bajos de actividad MPO detectados en muestras de tejido ileal o cecal de ratones tratados con *B. thetaiotaomicron*/DSS en comparación con DSS solo indica una reducción en el reclutamiento de neutrófilos y por lo tanto una reducción en la inflamación.

[0139] Se realizó el análisis histológico de colon ascendente (Figuras 4 y 5 y en la Tabla 1). El esquema de la histopatología de clasificación se basó en los criterios de Berg et al. 1996, tal como se resume:

0 = Criptas superficiales, ninguna o pocas células inflamatorias infiltrantes, epitelio intacto, células caliciformes aparecen llenas de mucina. es decir, sin patología

1 = Criptas pueden exhibir leve hiperplasia de células epiteliales, algunas células inflamatorias de infiltración difusa se pueden ver entre criptas, epitelio luminal aparece intacto, células caliciformes pueden aparecer con ligero agotamiento de mucina.

2 = Criptas aparecen más profundas con evidencia clara de la hiperplasia epitelial, agotamiento de mucina de células caliciformes, infiltración de células inflamatorias evidentes y pueden ser multifocales en la naturaleza, aunque los infiltrados no se ven en la submucosa.

3 = Lesiones implicaron un área más grande de la mucosa y/o eran más frecuentes que la observada en el grado 2. Las lesiones no implican la submucosa. Las células epiteliales lumbales exhibieron pequeñas erosiones. Las lesiones no son transmurales.

4 = El epitelio de cripta aparece erosionado. Los abscesos pueden estar presentes.

[0140] Las células epiteliales lumbales son irregulares, a veces con pérdida completa.

[0141] Se observa infiltrado transmural - esto se asocia a menudo con pérdida completa de las células epiteliales en el lumen.

[0142] La interrupción en el colon como resultado de la colitis inducida por DSS se redujo significativamente por el tratamiento de ratones con cepas *B. thetaiotaomicron* E1, E2 y BT2013. La expresión de genes asociados con la inflamación en el colon ascendente se redujo en ratones colonizados con *B. thetaiotaomicron* en comparación con

los ratones tratados con DSS solo. Las cepas de E1 y BT2013 redujeron en gran medida la expresión IL1B e IL6 de genes inflamatorios en comparación con la cepa E2. (Figura 6)

Tabla 1

| PRUEBA T | CONTROL | BT E1 | BT 2013 | BT E2 |
|----------|---------|-------|---------|-------|
| DSS | 0,000 | 0,032 | 0,041 | 0,089 |

Modelo In Vitro

[0143] La expresión del gen inflamatorio interleuquina-8 inducido en las células epiteliales intestinales después de la exposición PMA fue modulada en presencia de cepas de *B. thetaiotaomicron* E1, E2 y BT2013 (Figura 7).

Secuenciación del genoma de cepa BT2013

[0144] Una muestra de ADN de la cepa BT2013 se sometió a secuenciación en MiSeq (v2 nano 2x250bp) usando una biblioteca de Nextera XT para la fragmentación rápida y etiquetado con adaptadores de secuenciación, para dar un total de 4605120 lecturas (1115615927 bases).

[0145] El análisis de datos se resume a continuación:

- a. Asignación a la secuencia de referencia (NC_004663 y NC_004703) usando bowtie2 (2.2.2)
- b. Llamada de SNV e InDel pequeña usando VarScan (2.3.7) y SNVer (0.5.3) realizando una llamada de consenso para evitar falsos positivos
- c. Anotación de variaciones utilizando referencia gff
- d. Gran llamada de InDel usando pindel (0.2.5a3)
- e. Asamblea de-novo de lecturas no asignadas usando SOAPdenovo (2.04)
- f. Onda de contigs ensamblados contra la base de datos NCBI nt
- g. Submuestreo de todas las lecturas de la muestra a 50%
- h. Asamblea de-novo en las lecturas submuestreadas usando SOAPdenovo (2.04)

Las secuencias fueron asignadas a la secuencia de referencia (NC_004663 y NC_004703) usando bowtie2 (2.2.2). Variaciones de nucleótidos y pequeñas inserciones y/o deleciones se identificaron utilizando VarScan (2.3.7) y SNVer (0.5.3) para evitar falsos positivos durante la secuenciación y las variaciones fueron anotadas utilizando una secuencia de referencia. Grandes inserciones y deleciones se identificaron utilizando Pindel (0.2.5a3). Lecturas no asignadas se reunieron *de novo* usando SOAPdenovo (2,04). Los fragmentos de secuenciación se vuelven a montar en contigs que fueron destruidos contra la base de datos de nucleótidos NCBI. Todas las lecturas de la muestra se submuestrearon a 50% y luego se ensamblaron *de novo* usando SOAPdenovo (2,04) para proporcionar una versión concatenada del montaje de secuencia *de novo* de BT2013.

Reivindicaciones

1. Un *Bacteroides thetaiotaomicron* depositado como número de acceso 42341 en NCIMB.
- 5 2. Una composición que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1.
3. Una composición farmacéutica que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. Un suplemento nutricional que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, y un excipiente, vehículo o diluyente nutricional.
- 15 5. La composición que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 2, la composición farmacéutica que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 3, o el suplemento nutricional que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 4, en el que dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* se encapsula.
- 20 6. Un pienso, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario que comprende un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1.
7. El pienso, producto alimenticio, suplemento dietético, o un aditivo alimenticio según la reivindicación 6 en el que dichos piensos, productos alimenticios, suplementos dietéticos, o aditivos alimentarios se encapsulan.
- 25 8. Un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, una composición como se define en la reivindicación 2 o 5, una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3 o 5, un suplemento nutricional como se define en la reivindicación 4 o 5 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético, o un aditivo alimentario tal como se define en la reivindicación 6 o 7, para su uso en la reducción de la inflamación de un tejido o un órgano en un sujeto.
- 30 9. El *Bacteroides thetaiotaomicron*, la composición, la composición farmacéutica, el suplemento nutricional, el pienso, el producto alimenticio, el suplemento dietético, o el aditivo alimentario para su uso según la reivindicación 8 en que dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* reduce la inflamación por las células epiteliales del tejido o el órgano, opcionalmente en el que dichas células epiteliales son células epiteliales del canal alimentario.
- 35 10. Un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, una composición como se define en la reivindicación 2 o 5, una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3 o 5, un suplemento nutricional como se define en la reivindicación 4 o 5 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético, o un aditivo alimentario tal como se define en la reivindicación 6 o 7, para uso en el tratamiento y/o prevención de un trastorno en un sujeto; en el que dicho trastorno es un trastorno inflamatorio y/o un trastorno autoinmune y/o un trastorno alérgico, opcionalmente en el que dicho trastorno afecta al canal alimentario, una sección del canal alimentario, y/o células epiteliales.
- 40 11. El *Bacteroides thetaiotaomicron*, la composición, la composición farmacéutica, el suplemento nutricional, el pienso, el producto alimenticio, el suplemento dietético, o el aditivo alimentario para su uso según la reivindicación 10 en el que dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en trastorno inflamatorio del intestino (IBD), colitis, artritis reumatoide, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes tipo I, enfermedad celíaca, dermatitis atópica, rinitis, síndrome del intestino irritable (IBS), la colitis ulcerosa, la pouchitis, la enfermedad de Crohn, dispepsia funcional, enfermedades atópicas, enterocolitis necrotizante, enfermedad del hígado graso no alcohólico, infección gastrointestinal y combinaciones de los mismos.
- 45 12. Un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, una composición como se define en la reivindicación 2 o 5, una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3 o 5, un suplemento nutricional como se define en la reivindicación 4 o 5 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético, o un aditivo alimentario como se ha definido en la reivindicación 6 o 7 para uso en la reducción de la interrupción de los dos puntos de un sujeto, opcionalmente en el que dicho sujeto tiene EII.
- 50 13. El *Bacteroides thetaiotaomicron*, la composición, la composición farmacéutica, el suplemento nutricional, el pienso, el producto alimenticio, el suplemento dietético, o el aditivo alimentario para su uso según la reivindicación 12 en el que dicho *Bacteroides thetaiotaomicron*, composición, composición farmacéutica, suplemento nutricional, alimento, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario reduce o evita la interrupción de la integridad del epitelio de la mucosa y/o reduce o previene una reducción en el número de células caliciformes en el epitelio y/o reduce o previene la infiltración de células inmunes en la lámina propia.
- 55 14. Un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, una composición como se define en
- 60
- 65

la reivindicación 2 o 5, una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3 o 5, un suplemento nutricional como se define en la reivindicación 4 o 5 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético, o un aditivo alimentario tal como se define en la reivindicación 6 o 7 para uso en la reducción de la expresión de uno o más genes pro-inflamatorios en una célula o células de un sujeto, opcionalmente en el que dichos genes pro-inflamatorios se selecciona del grupo que consiste de IL1- β , IL6, IL8, IL10 y combinaciones de los mismos, y/o en el que dicha célula es una célula de tubo digestivo (tal como una célula de colon ascendente) o células epiteliales (tales como una célula epitelial intestinal).

15. Un *Bacteroides thetaiotaomicron* como se define en la reivindicación 1, una composición como se define en la reivindicación 2 o 5, una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 3 o 5, un suplemento nutricional como se define en la reivindicación 4 o 5 o un pienso, un producto alimenticio, un suplemento dietético, o un aditivo alimentario tal como se define en la reivindicación 6 o 7 para uso en el aumento del porcentaje de células T reguladoras (Treg) en el tubo digestivo o una sección del canal alimentario, opcionalmente en el que dicha sección del tubo digestivo es la lámina propia de intestino delgado.

16. Un proceso para producir una composición farmacéutica según la reivindicación 3 o 5, comprendiendo dicho proceso el mezclado de dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

17. Un procedimiento para producir un suplemento alimenticio de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, comprendiendo dicho proceso el mezclado de dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* con un excipiente, vehículo o diluyente nutricionalmente aceptable.

18. Un procedimiento para producir un alimento, producto alimenticio, suplemento dietético, o aditivo alimentario según la reivindicación 6 o 7, comprendiendo dicho procedimiento el mezclado de dicho *Bacteroides thetaiotaomicron* con un pienso, producto alimenticio, suplemento dietético, un aditivo alimentario o un ingrediente de los mismos.

19. El proceso de la reivindicación 16, 17 o 18, en el que *Bacteroides thetaiotaomicron* está encapsulado en dicho proceso.

FIG. 1

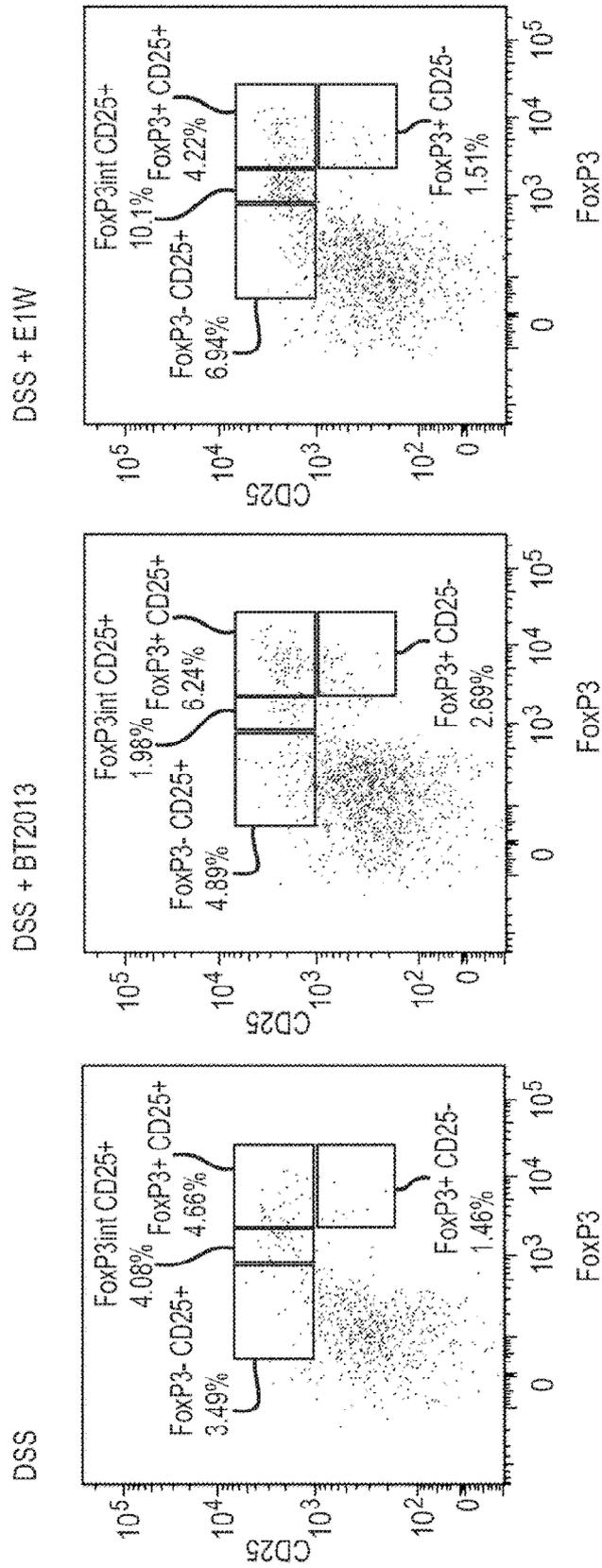


FIG. 1 (continuado)

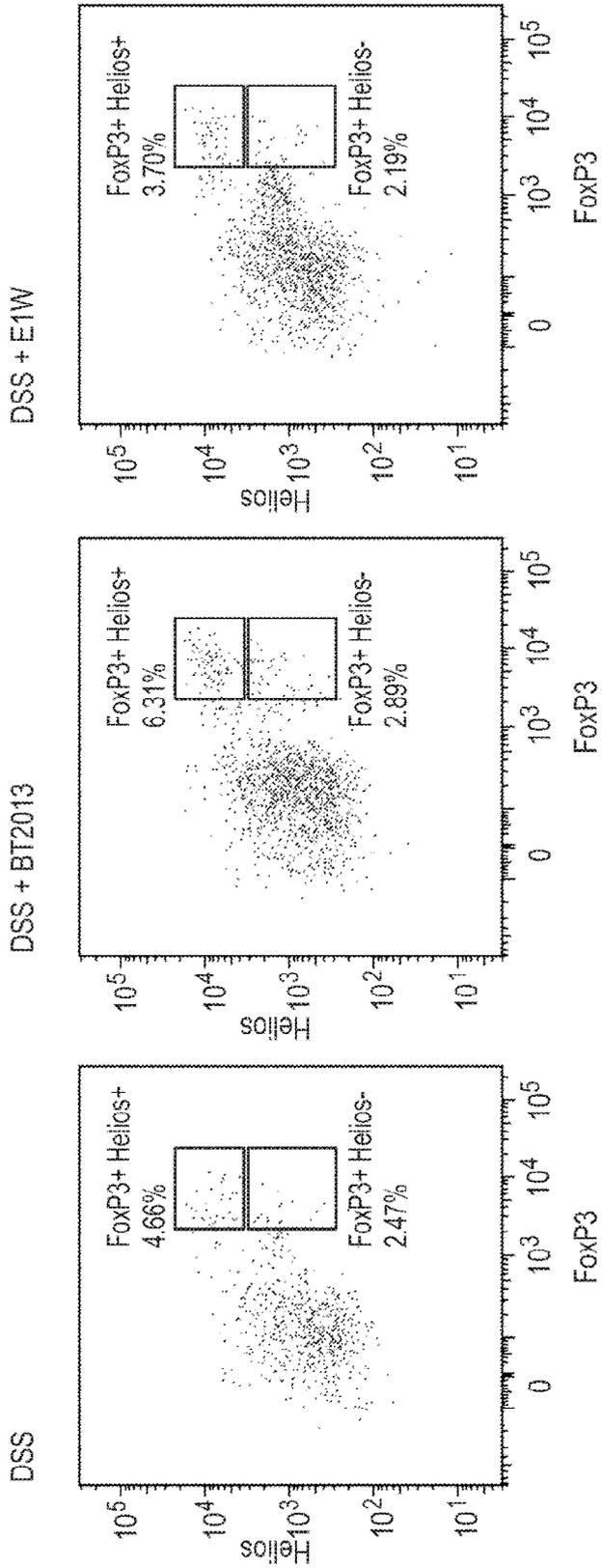


FIG. 1 (continuado)

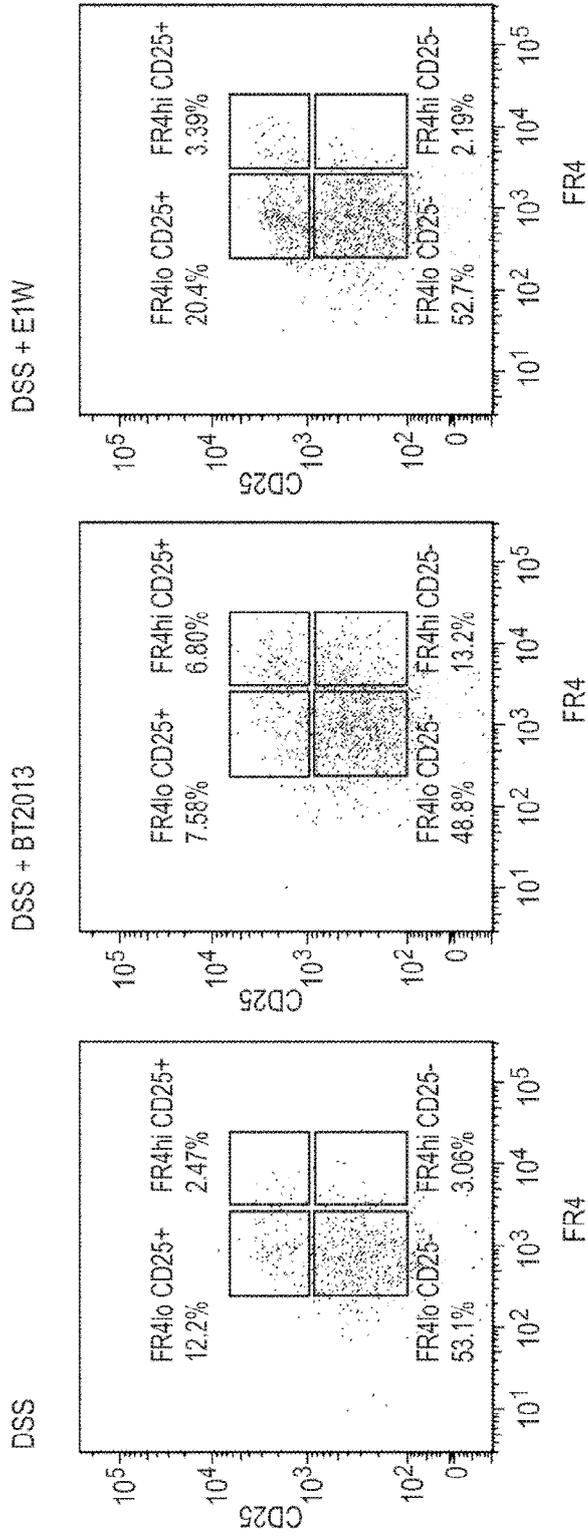


FIG. 2

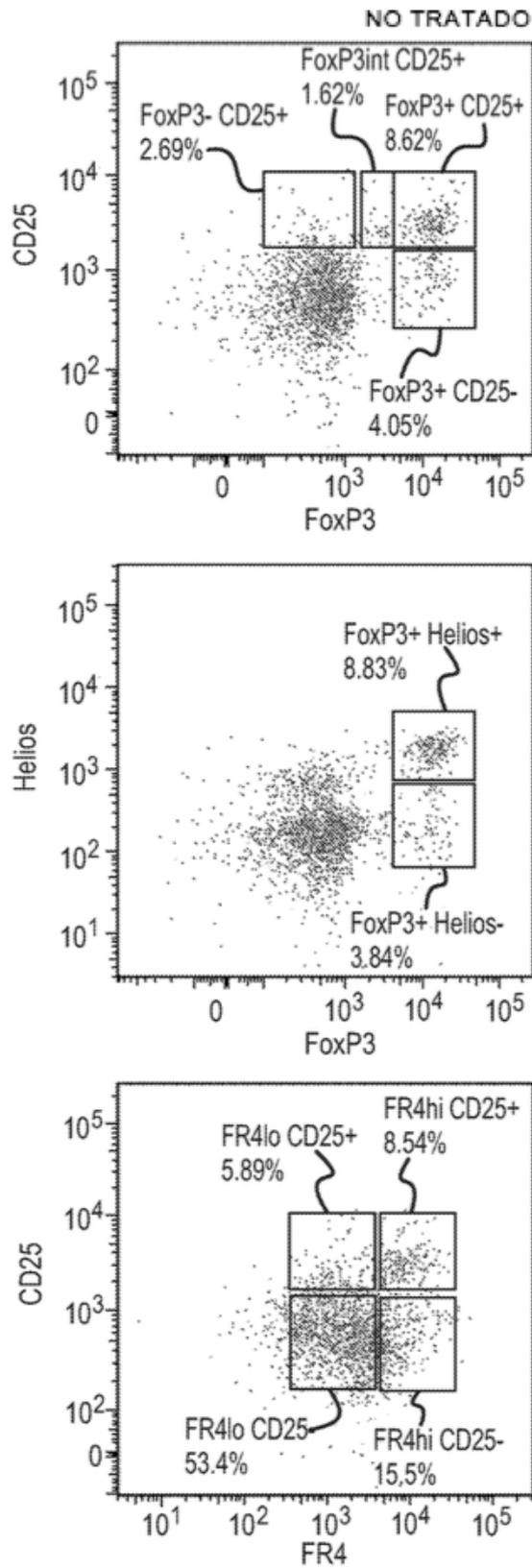


FIG. 2 (continuado)

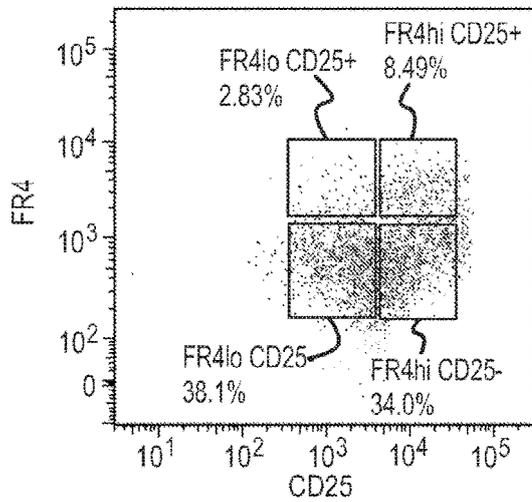
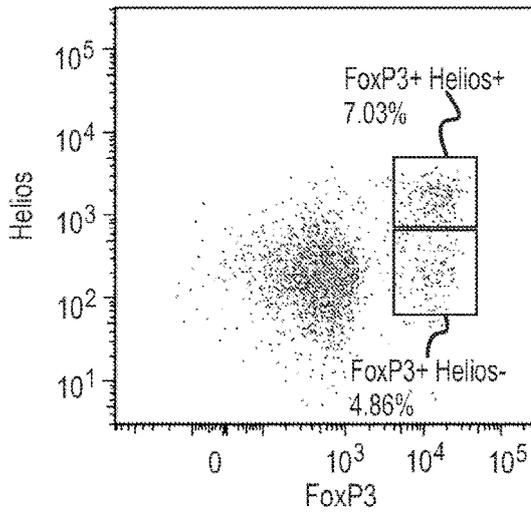
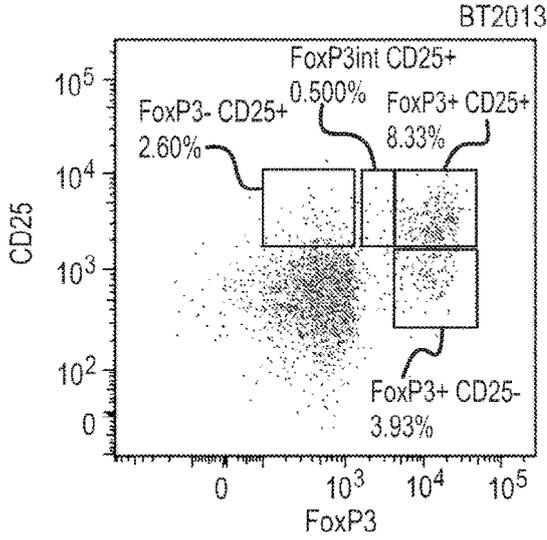
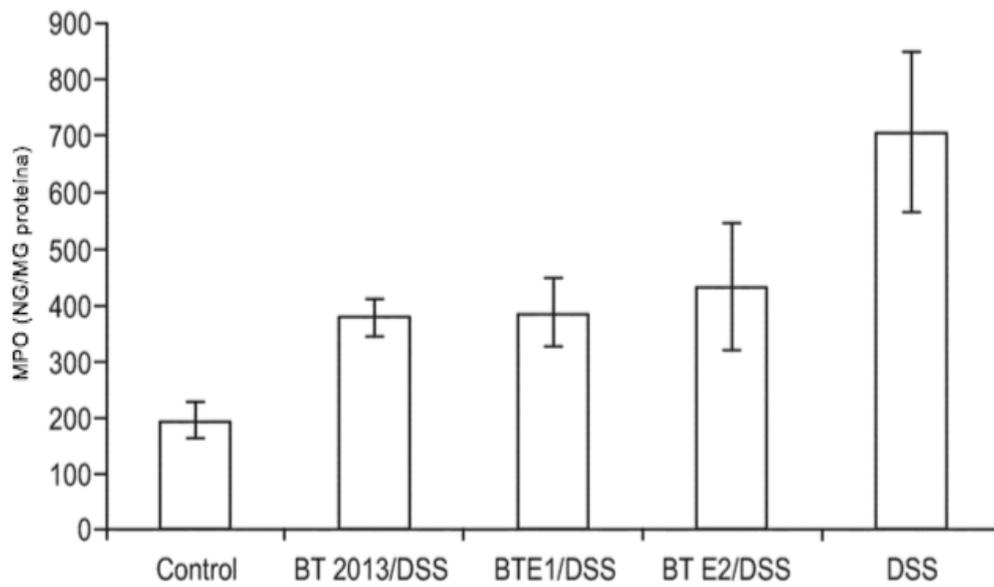
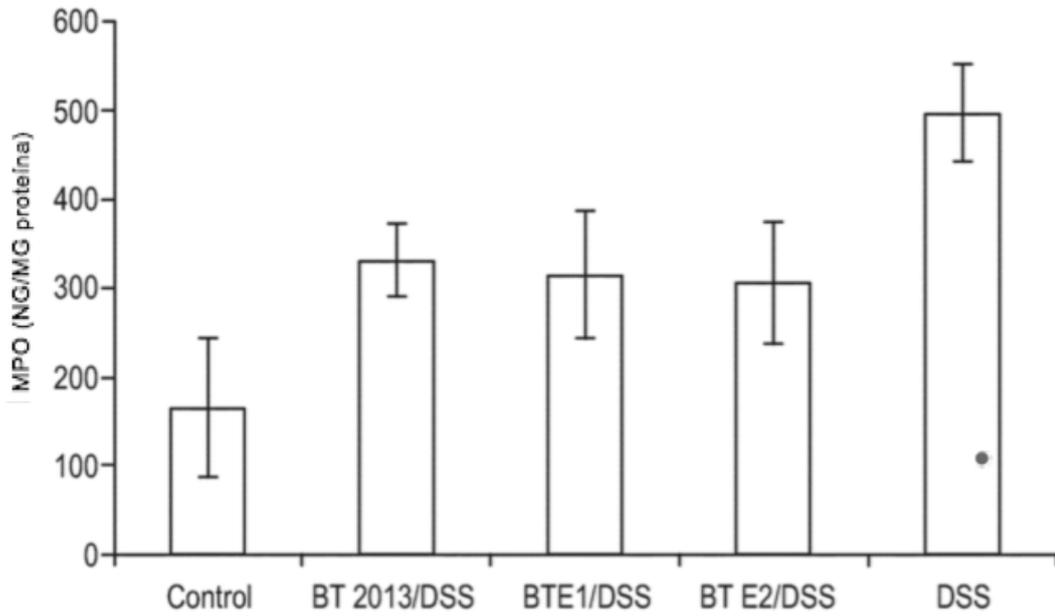


FIG. 3a



| | | |
|-------------------|-----|---------|
| control vs BT2013 | * | P<0.05 |
| control vs BT E1 | * | P<0.05 |
| control vs BTE2 | ** | P<0.01 |
| control vs DSS | *** | P<0.001 |
| BT2013 vs BTE1 | ns | P>0.05 |
| BT2013 vs BTE2 | ns | P>0.05 |
| BT2013 vs DSS | *** | P<0.001 |
| BT E1 vs BTE2 | ns | P>0.05 |
| BT E1 vs DSS | *** | P<0.001 |
| BTE2 vs DSS | *** | P<0.001 |

FIG. 3b



| | | |
|-------------------|-----|---------|
| control vs BT2013 | ** | P<0.01 |
| control vs BT E1 | * | P<0.05 |
| control vs BTE2 | * | P<0.05 |
| control vs DSS | *** | P<0.001 |
| BT2013 vs BTE1 | ns | P>0.05 |
| BT2013 vs BTE2 | ns | P>0.05 |
| BT2013 vs DSS | ** | P<0.01 |
| BT E1 vs BTE2 | ns | P>0.05 |
| BT E1 vs DSS | ** | P<0.01 |
| BTE2 vs DSS | ** | P<0.01 |

FIG. 4a

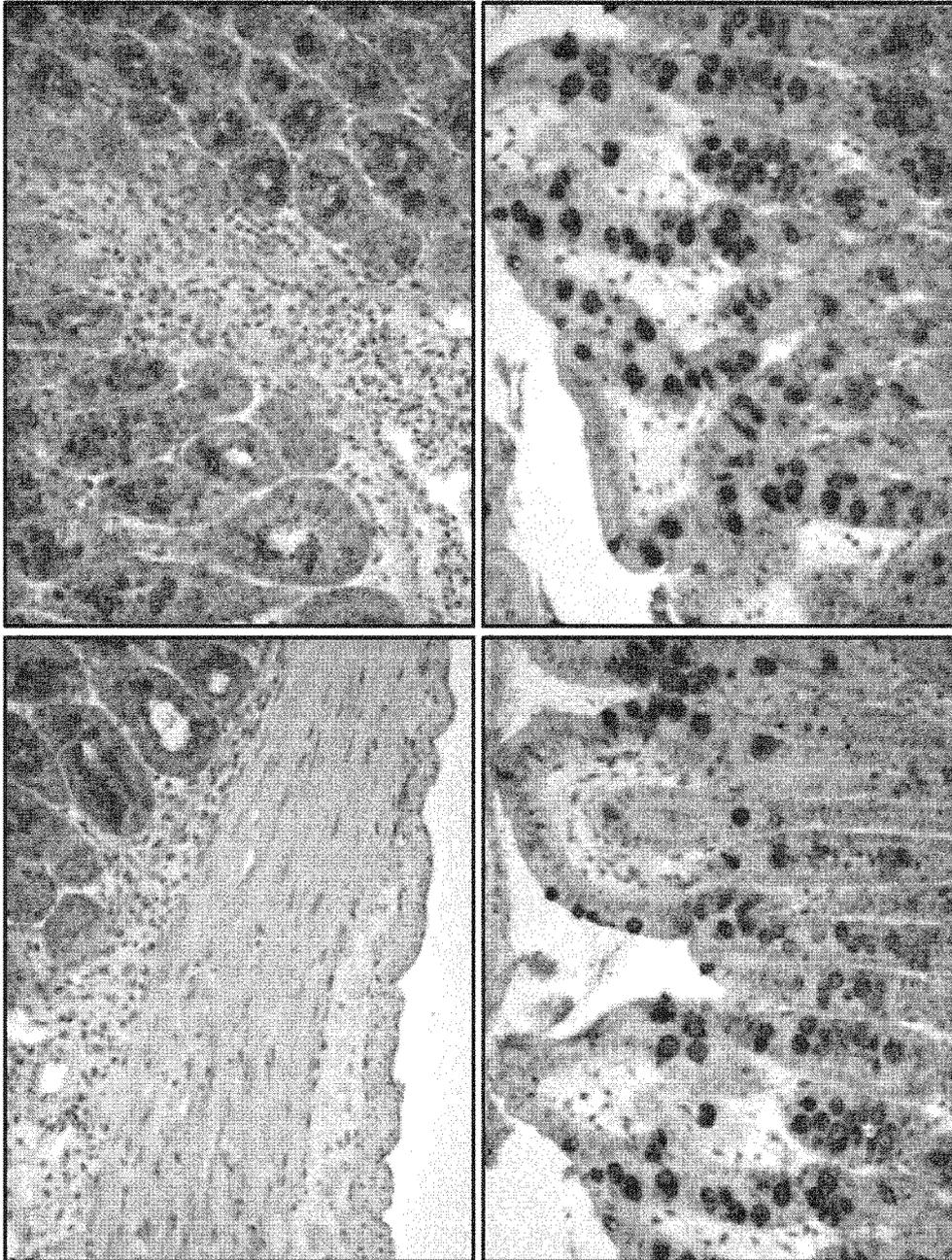


FIG. 4b

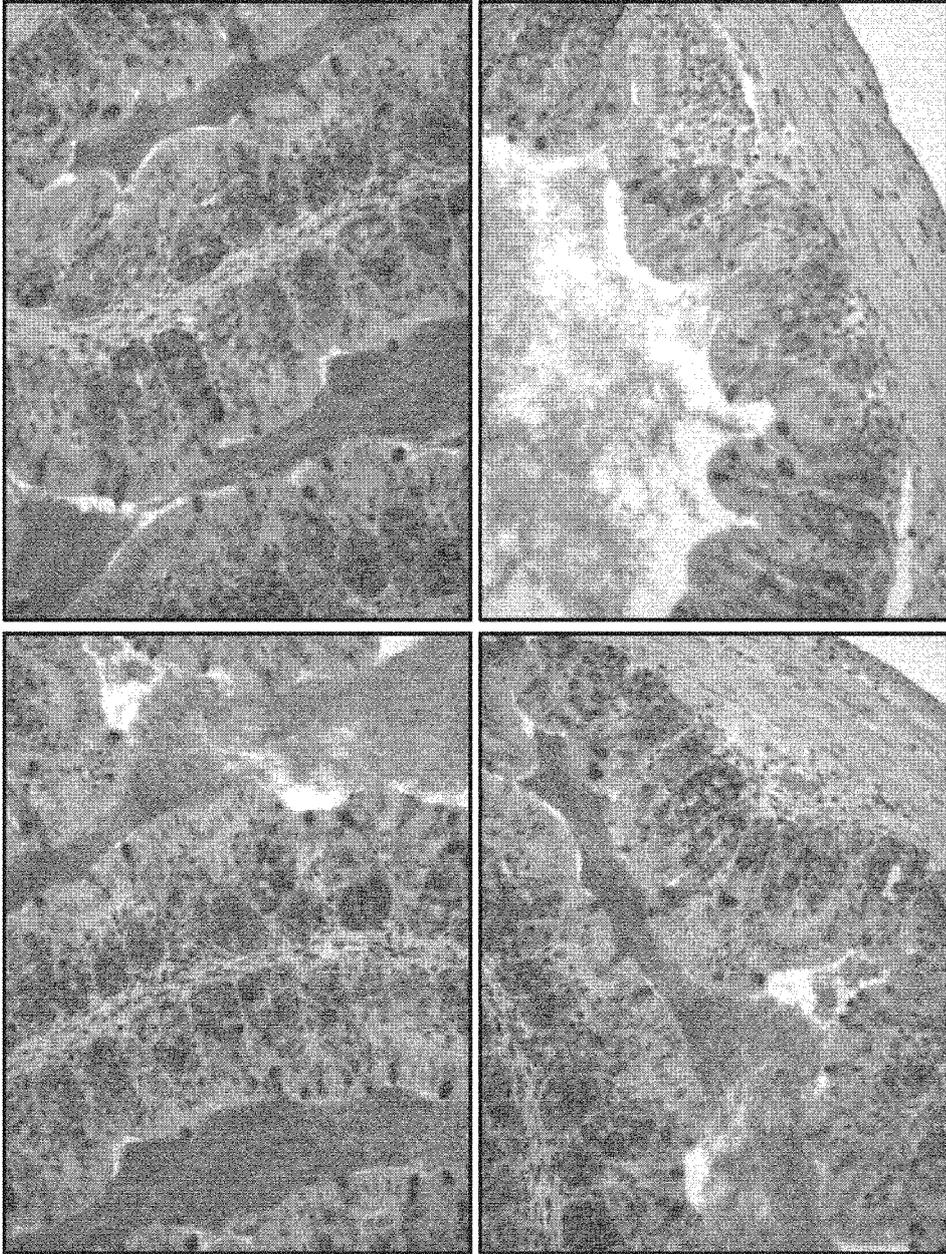


FIG. 5

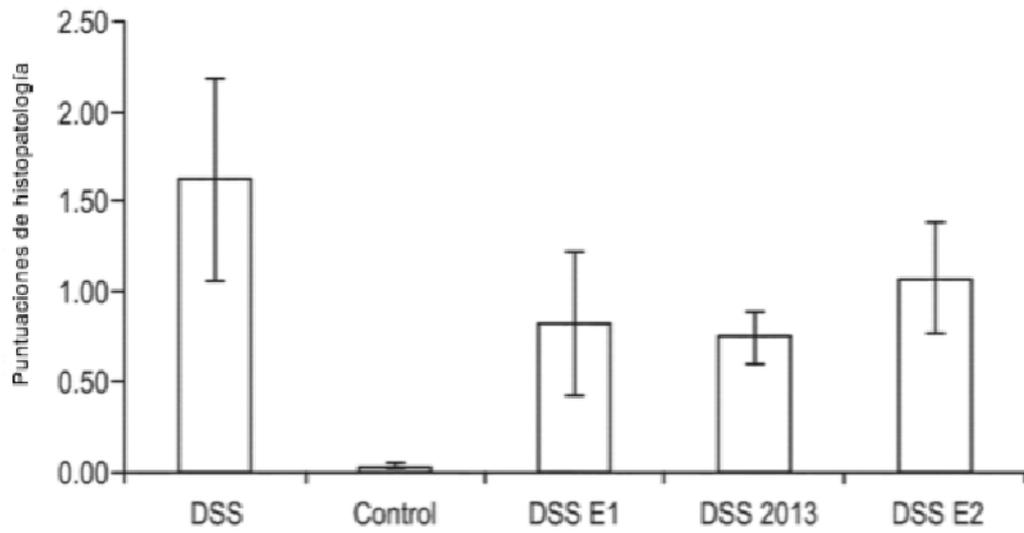


FIG. 7

