

COMPOSICIONES QUE COMPRENDEN CEPAS BACTERIANAS

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se encuentra en el campo de las composiciones que comprenden cepas bacterianas aisladas del tracto digestivo de mamíferos y el uso de dichas composiciones en el tratamiento de enfermedades.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Se considera que el intestino humano es estéril en el útero, pero está expuesto a una gran variedad de microbios maternos y ambientales inmediatamente después del nacimiento. Posteriormente, se produce un período dinámico de colonización y sucesión microbiana, que está influenciado por factores tales como el modo de parto, el medioambiente, la dieta y el genotipo del huésped, los cuales tienen todos un impacto sobre la composición de la microbiota intestinal, en particular durante los primeros años de vida. Posteriormente, la microbiota se estabiliza y pasa a ser adulta [1]. La microbiota del intestino humano contiene más de 1500 filotipos diferentes, dominados en niveles de abundancia por dos divisiones bacterianas principales (filos), Bacteroidetes y Firmicutes [2]. Las relaciones simbióticas exitosas que surgen de la colonización bacteriana de los intestinos humanos han producido una amplia variedad de funciones metabólicas, estructurales, protectoras, así como otras funciones beneficiosas. Las actividades metabólicas mejoradas del intestino colonizado aseguran que componentes de la dieta, que de otro modo no serían digeribles, se degraden con liberación de subproductos que proporcionan una importante fuente de nutrientes para el hospedador y beneficios para la salud adicionales. De manera similar, la importancia inmunológica de la microbiota intestinal es muy reconocida y se ejemplifica en animales libres de gérmenes que tienen un sistema inmunitario deficiente que se reconstituye desde el punto de vista funcional después de la introducción de bacterias comensales [3-5].

Se han documentado cambios drásticos en la composición de la microbiota en trastornos gastrointestinales tales como enfermedad inflamatoria intestinal (IBD). Por ejemplo, los niveles de bacterias del grupo XIVa de *Clostridium* se reducen en sujetos con IBD mientras que los niveles de *E. coli* aumentan, lo que sugiere un cambio en el equilibrio de simbiosis y patobiontes en el intestino [6-9, 18].

Al reconocer el potencial efecto positivo que determinadas cepas bacterianas pueden tener sobre el intestino de un animal, se han propuesto diversas cepas para su uso en el tratamiento

de diversas enfermedades (véase, por ejemplo, [10-13]). Una variedad de cepas, que incluyen principalmente las cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, ha sido propuesta para su uso en el tratamiento de diversas enfermedades intestinales (véase [14] por una reseña y véase [15]). La referencia [16] propone el uso de cepas del género *Blautia* para modular el equilibrio microbiano del ecosistema digestivo. En el contexto de la referencia 16, la modulación se refiere a promover la actividad de la flora bacteriana acetogénica para disminuir las bacterias metanogénicas y reductoras de azufre. Este documento, por lo tanto, solamente describe un aumento de las bacterias acetogénicas. No hay discusión que se refiera a la diversidad de especies que pertenecen a una cantidad de taxones. La referencia [17] discute el uso de *Blautia* para mejorar la supervivencia en pacientes que padezcan enfermedad de injerto contra huésped (GVDH, por sus siglas en inglés). Menciona que un aumento de la diversidad bacteriana se asocia con una reducción de la mortalidad relacionada con GVDH y que una mayor cantidad de bacterias del género *Blautia* se asoció con una reducción de GVDH. Sin embargo, no sugiere que la administración de *Blautia* a un paciente produzca un aumento de la diversidad de microbiota y/o induzca estabilidad de la microbiota en un sujeto.

La relación entre diferentes cepas bacterianas y diferentes enfermedades, y los efectos concretos de cepas bacterianas particulares en el intestino y a un nivel sistémico y en cualquier tipo particular de enfermedades se encuentran poco caracterizados, y los resultados a la fecha son variables y en lugar de proporcionar respuestas plantean más preguntas [18].

Un rasgo distintivo de muchas enfermedades humanas vinculadas a la alteración de la microbiota es una pérdida de la diversidad de microbiota. Diferente de la llamada *disbiosis*, que es simplemente una composición de microbiota alterada en comparación con la microbiota acumulada típica en sujetos sanos, la pérdida de diversidad de la microbiota puede cuantificarse mediante una reducción mensurable en la cantidad de clasificaciones bacterianas basadas en secuencias o unidades taxonómicas operativas (OTU, por sus siglas en inglés) en una muestra, típicamente determinada mediante métodos de secuenciación de amplicones de ARNr 16S. También se mide la pérdida de diversidad mediante reducciones en el índice de diversidad de Shannon o el índice de Chao. Se informa acerca de diversidad de la microbiota reducida en estudios recientes sobre obesidad, enfermedad intestinal inflamatoria (IBD, por sus siglas en inglés), síndrome del intestino irritable (IBS, por sus siglas en inglés), diabetes tipo 2 y personas mayores de salud frágil [20]. El restablecimiento de la microbiota

sana puede ser difícil, ya que las bacterias en el intestino son resistentes a la colonización. Esto plantea un desafío cuando se busca tratar la microbiota de sujetos poco sanos mediante el aumento de la diversidad de la microbiota [19]. Se asume que la pérdida asociada de función metabólica microbiana es un factor que contribuye a los síntomas de estas fisiopatologías. En contraste con los adultos sanos en los cuales la microbiota es estable, la microbiota de los sujetos no sanos, tales como los que padecen de IBD, IBS y sujetos ancianos de salud frágil, es inestable [18, 20].

Hay una necesidad de caracterizar los efectos posibles de las bacterias intestinales de modo que se puedan desarrollar nuevas terapias que utilicen bacterias intestinales.

COMPENDIO DE LA INVENCION

Los inventores han desarrollado nuevas terapias para tratar y prevenir enfermedades y trastornos al aumentar o mantener la diversidad de la microbiota intestinal en un sujeto. En particular, los inventores han identificado que las cepas bacterianas del género *Blautia* pueden ser eficaces para aumentar o mantener la cantidad y/o uniformidad de los diferentes tipos de bacterias en el intestino distal de un sujeto. Tal como se describe en los ejemplos, la administración oral de composiciones que comprenden *Blautia hydrogenotrophica* aumenta la diversidad de la microbiota en las heces. Este aumento de la diversidad se observó en sujetos sanos y con IBS. Sin embargo, los sujetos con IBS que recibieron placebo tuvieron una reducción estadísticamente significativa en la diversidad de microbiomas durante el transcurso del estudio. De manera adicional, los ejemplos muestran que el tratamiento con composiciones que comprenden *Blautia hydrogenotrophica*, pero no placebo, aumentó la estabilidad de la microbiota en sujetos con IBS durante el transcurso del estudio. La estabilidad de la microbiota en sujetos que recibieron la composición que comprende *Blautia hydrogenotrophica* fue similar a la de sujetos de control sanos.

Por lo tanto, en una primera modalidad, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia*, para su uso en un método para aumentar o mantener la diversidad de la microbiota. De manera similar, se proporciona un método para aumentar o mantener la diversidad de la microbiota en un sujeto que comprende el uso de una cepa bacteriana del género *Blautia*.

La expresión “aumentar o mantener la diversidad de la microbiota” se utiliza en la presente con el significado de aumentar o mantener la cantidad de diferentes tipos de bacterias y/o la

uniformidad de los diferentes tipos de bacterias en la microbiota de un sujeto. En algunas modalidades, se aumenta la diversidad de la microbiota. En algunas modalidades, se aumenta la cantidad de diferentes géneros de bacterias en la microbiota. En algunas modalidades, se aumenta la cantidad de diferentes especies de bacterias en la microbiota. En algunas modalidades, se aumenta la cantidad de diferentes cepas de bacterias en la microbiota. En algunas modalidades, se mantiene la diversidad de la microbiota. En algunas modalidades, se mantiene la cantidad de diferentes géneros de bacterias en la microbiota. En algunas modalidades, se mantiene la cantidad de diferentes especies de bacterias en la microbiota. En algunas modalidades, se mantiene la cantidad de diferentes cepas de bacterias en la microbiota. En algunas modalidades, se aumenta o mantiene la cantidad de géneros, especies o cepas en la microbiota.

El aumento de la diversidad de la microbiota puede ser para bacterias no acetogénicas. También puede ser tanto para bacterias acetogénicas como no acetogénicas. En la técnica se conocen dichas bacterias. A grandes rasgos, las bacterias acetogénicas producen acetato como subproducto de la fermentación o respiración anaeróbica.

En algunas modalidades, la pérdida, aumento o mantenimiento de la diversidad de la microbiota se puede cuantificar mediante una reducción, aumento o mantenimiento mensurables, respectivamente, de la cantidad de clasificaciones bacterianas basadas en secuencias o de unidades taxonómicas operativas (OTU) en una muestra, que se determina típicamente mediante métodos de secuenciación de amplicones de ARNr 16S. En algunas modalidades, también se puede medir la pérdida de diversidad mediante reducciones en el índice de diversidad de Shannon o el índice de Chao. Por el contrario, en algunas modalidades, un aumento de la diversidad puede medirse mediante un aumento en el índice de diversidad de Shannon o el índice de Chao. De manera similar, en algunas modalidades, el mantenimiento de la diversidad puede medirse mediante el mismo resultado en el índice de diversidad de Shannon o el índice de Chao.

En algunas modalidades, se aumenta la uniformidad de los diferentes tipos de bacterias. En algunas modalidades, la abundancia relativa de los diferentes tipos de bacterias en la microbiota se vuelve más uniforme después del tratamiento o prevención con una composición de la invención.

Los inventores también han desarrollado nuevas terapias para tratar y prevenir enfermedades

y trastornos al inducir la estabilidad de la microbiota intestinal. En particular, los inventores han identificado que cepas bacterianas del género *Blautia* inducen la estabilidad de la microbiota intestinal. “Inducir la estabilidad” significa que la diversidad de la microbiota permanece estable y también las cantidades relativas de los diferentes géneros en la microbiota permanecen estables. Esto es importante, dado que una cantidad de enfermedades y trastornos, incluso IBS e IBD, se caracterizan por una estabilidad reducida de la microbiota. Tal como se describe en los ejemplos, la administración oral de composiciones que comprenden *Blautia hydrogenotrophica* induce estabilidad de la microbiota en las heces. Por lo tanto, en una modalidad adicional, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia*, para su uso en un método para inducir estabilidad de la microbiota en un sujeto. De manera similar, se proporciona un método para inducir estabilidad de la microbiota en un sujeto que comprende el uso de una cepa bacteriana del género *Blautia*.

En algunas modalidades, las cantidades relativas de las diferentes especies bacterianas en la microbiota de un sujeto se vuelven más estables después del tratamiento o prevención con una composición de la invención, por ejemplo, en un sujeto al que se le diagnosticó una enfermedad o tratamiento caracterizado por una reducción en la diversidad de la microbiota. En algunas modalidades, las cantidades relativas de los diferentes géneros bacterianos en la microbiota de un sujeto se vuelven más estables después del tratamiento o prevención con una composición de la invención, por ejemplo, en un sujeto al que se le diagnosticó una enfermedad o tratamiento caracterizado por una reducción en la diversidad de la microbiota. La estabilidad de la microbiota de un sujeto se puede evaluar mediante la comparación del microbioma del sujeto en dos momentos diferentes. Si hay diferencia en el microbioma, esto puede indicar que hay presente una enfermedad o un trastorno. En algunas modalidades, los dos momentos diferentes están separados al menos por tres días (por ejemplo, al menos 1 semana, al menos 2 semanas, 1 mes, 3 meses, 6 meses, 1 año, 2 años). En algunas modalidades, los dos momentos diferentes están separados entre 3-7 días, 1-2 semanas, 2-4 semanas, 4-8 semanas, 8-24 semanas, 24-40 semanas, 40-52 semanas o más de 52 semanas. En algunas modalidades, se utilizan más de dos momentos diferentes, por ejemplo, tres, cuatro, cinco o más de cinco momentos. Se seleccionan intervalos adecuados entre los diversos momentos, por ejemplo, tal como se indicó anteriormente.

En modalidades preferidas de todos los aspectos de la invención, la cepa bacteriana es *Blautia hydrogenotrophica* y es preferentemente la bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294.

En algunas modalidades, la diversidad de la microbiota y/o la estabilidad de la microbiota se refiere a la diversidad y/o la estabilidad de la microbiota en las heces del sujeto. En algunas modalidades, la diversidad de la microbiota y/o la estabilidad de la microbiota se refiere a la diversidad y/o la estabilidad de la microbiota en una muestra de heces del sujeto. En algunas modalidades, la diversidad de la microbiota y/o la estabilidad de la microbiota se refiere a la diversidad y/o la estabilidad de la microbiota en el intestino distal del sujeto. En algunas modalidades, la diversidad de la microbiota y/o la estabilidad de la microbiota se refiere a la diversidad y/o la estabilidad de la microbiota en el tracto gastrointestinal del sujeto. En algunas modalidades, la diversidad de la microbiota y/o la estabilidad de la microbiota se refiere a la diversidad y/o la estabilidad de la microbiota en el ciego. En algunas modalidades, la diversidad de la microbiota y/o la estabilidad de la microbiota se refiere a la diversidad y/o la estabilidad de la microbiota en el colon.

En algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad o tratar asociado con un nivel de diversidad de la microbiota reducido en comparación con la diversidad de la microbiota de un sujeto sano. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención mediante el uso de una composición de la invención da como resultado en el aumento de la diversidad de la microbiota a los niveles presentes en un individuo sano. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención mediante el uso de una composición de la invención da como resultado en el aumento de la diversidad de la microbiota a niveles mayores que los presentes en algunos individuos sanos. En algunas modalidades, el individuo sano tiene la misma edad o una similar a la del sujeto y/o es de la misma raza y/o una similar a la del sujeto. De manera similar, la invención también proporciona un método de tratamiento o prevención de una enfermedad o tratamiento asociado con un nivel de diversidad de microbiota reducido en comparación con la diversidad de la microbiota de un sujeto sano, donde el método comprende administrar una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia*. Los ejemplos de enfermedades o trastornos asociados con un nivel reducido de diversidad de microbiota incluyen, de modo no

taxativo: IBS, IBD [21], obesidad [22], diabetes tipo 2, enfermedades infecciosas, enfermedades alérgicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades/trastornos metabólicos. La invención abarca el tratamiento o prevención de estas enfermedades y trastornos. En algunas modalidades, la enfermedad o el trastorno es IBS.

5 En algunas modalidades, el sujeto es un bebé o niño con una diversidad de la microbiota reducida en comparación con un bebé o niño sano, respectivamente. Se ha observado que algunos niños que desarrollan una enfermedad alérgica posteriormente en la vida tienen una diversidad reducida de microbiota fecal cuando son bebés de 1 semana [23]. Por lo tanto, en algunas modalidades, el bebé tiene menos de 1 semana, menos de 2 semanas, menos de un
10 mes, menos de dos meses o menos de cuatro meses. En algunas modalidades, el sujeto es un bebé que no nació mediante parto vaginal. Por ejemplo, en algunas modalidades, el sujeto es un bebé que nació mediante cesárea. También se ha observado diversidad de la microbiota reducida en sujetos ancianos de salud frágil. En algunas modalidades, por ejemplo, el sujeto es un sujeto anciano, por ejemplo, un sujeto anciano de salud frágil. En
15 algunas modalidades, el sujeto tiene 65 años de edad o más (por ejemplo, 70 o más, 75 o más, 80 o más, 85 o más, o 90 o más años de edad) [20].

Se ha estimado que un único individuo humano tiene aproximadamente 101 especies bacterianas diferentes y 195 cepas diferentes en su microbiota [24]. Por consiguiente, en algunas modalidades, la composición se utiliza en el tratamiento de un sujeto que tiene menos
20 de 101 especies bacterianas diferentes (por ejemplo, menos de 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 o 70 especies bacterianas diferentes) y/o menos de 195 cepas diferentes (por ejemplo, menos de 194, 193, 192, 191, 190, 189, 188, 187, 186, 185, 183, 180, 175, 170, 165, 160, 150, 140 cepas bacterianas) en su microbiota. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado un aumento de la diversidad de la microbiota a
25 más de 80 especies bacterianas (por ejemplo, más de 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 especies bacterianas) o a 101 especies bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a más de 90 especies bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a
30 más de 95 especies bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a más de 97

especies bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a más de 99 especies bacterianas. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado un aumento de la diversidad de la microbiota a más de 160 cepas bacterianas (por ejemplo, más de 165, 170, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193 o 194 especies bacterianas) o a 195 cepas bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a más de 175 cepas bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a más de 185 cepas bacterianas. Por ejemplo, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado el aumento de la diversidad de la microbiota a más de 190 cepas bacterianas.

En algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado un aumento de la diversidad de la microbiota en al menos un género bacteriano (por ejemplo, al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez géneros bacterianos). En algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado un aumento de la diversidad de la microbiota en al menos una especie bacteriana (por ejemplo, al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, 12, 15, 17 o 20 especies bacterianas). En algunas modalidades, el tratamiento o prevención da como resultado un aumento de la diversidad de la microbiota en al menos una cepa bacteriana (por ejemplo, al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, 12, 15, 17, 20 o 25 cepas bacterianas).

En algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad o tratar asociado con una estabilidad reducida de la microbiota en comparación con la estabilidad de la microbiota en un sujeto sano (o en comparación con una población de sujetos sanos). “Estabilidad reducida de la microbiota” significa que la diversidad de la microbiota no permanece estable y además que las cantidades relativas de los diferentes géneros en la microbiota no permanece estable como la estabilidad observada en un sujeto sano o en una población de sujetos sanos. En algunas modalidades, inducir estabilidad de la microbiota da como resultado que se induce la estabilidad hasta un nivel similar al presente en un sujeto sano, o en una población de sujetos sanos. En algunas modalidades, inducir estabilidad de la microbiota da como resultado que se induce la estabilidad hasta el mismo

nivel presente en un sujeto sano, o en una población de sujetos sanos. De manera similar, la invención proporciona un método para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado con una estabilidad reducida en la microbiota, donde el método comprende administrar una composición que comprende una cepa de bacteria del género *Blautia*. Por ejemplo, la patogénesis de algunas enfermedades o trastornos se caracteriza por una estabilidad reducida de la microbiota. Los ejemplos de dichas enfermedades y trastornos son IBS, IBD, diabetes (por ejemplo, diabetes tipo 2), enfermedades alérgicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades/trastornos metabólicos. Por consiguiente, en algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad o tratar asociado con una estabilidad reducida de la microbiota, donde el tratamiento o prevención comprende inducir la estabilidad de la microbiota. En algunas modalidades, la enfermedad o trastorno se selecciona de IBS, IBD, diabetes (por ejemplo, diabetes tipo 2), enfermedades alérgicas, enfermedades autoinmunitarias y enfermedades/trastornos metabólicos. En algunas modalidades, la enfermedad o el trastorno es IBS o IBD. En algunas modalidades, la enfermedad o el trastorno es IBS. Por consiguiente, en algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* para su uso en un método para tratar o prevenir IBS o IBD, donde el tratamiento o prevención comprende inducir la estabilidad de la microbiota.

En algunas modalidades, la invención también proporciona un método de tratamiento o prevención de una enfermedad o tratamiento asociado con un nivel de diversidad de microbiota reducido en comparación con la diversidad de la microbiota de un sujeto sano, donde el método comprende diagnosticar que un sujeto tiene un nivel reducido de diversidad de la microbiota y entonces, si se halla un nivel reducido de diversidad, administrarle una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* al sujeto.

En algunas modalidades, la invención proporciona un método de tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno asociado con estabilidad reducida de la microbiota en comparación con la estabilidad de la microbiota en un sujeto sano, donde el método comprende diagnosticar que el sujeto tiene estabilidad reducida de la microbiota y entonces, si se halla una estabilidad reducida, administrarle una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* al sujeto.

En modalidades preferidas de la invención la cepa bacteriana de la composición es de *Blautia hydrogenotrophica*. También se pueden utilizar cepas estrechamente relacionadas, tales como cepas bacterianas que tengan una secuencia de ARNr 16S que sea al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la secuencia de ARNr 16S de una cepa bacteriana de *Blautia hydrogenotrophica*. Preferentemente, la cepa bacteriana tiene una secuencia de ARNr 16S que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la SEQ ID NO:5. Preferentemente, la cepa bacteriana tiene la secuencia de ARNr 16s de la SEQ ID NO:5. Más preferentemente, la cepa bacteriana de la composición es la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294.

En modalidades adicionales de la invención la cepa bacteriana de la composición es de *Blautia stercoris*. También se pueden utilizar cepas estrechamente relacionadas, tales como cepas bacterianas que tengan una secuencia de ARNr 16S que sea al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la secuencia de ARNr 16S de una cepa bacteriana de *Blautia stercoris*. Preferentemente, la cepa bacteriana tiene una secuencia de ARNr 16S que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la SEQ ID NO:1 o 3. Preferentemente la identidad de secuencia es con la SEQ ID NO:3. Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene la secuencia de ARNr 16s representada por la SEQ ID NO:3.

En modalidades adicionales de la invención, la cepa bacteriana de la composición es de *Blautia wexlerae*. También se pueden utilizar cepas estrechamente relacionadas, tales como cepas bacterianas que tengan una secuencia de ARNr 16S que sea al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la secuencia de ARNr 16S de una cepa bacteriana de *Blautia wexlerae*. Preferentemente, la cepa bacteriana tiene una secuencia de ARNr 16S que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la SEQ ID NO:2 o 4. Preferentemente la identidad de secuencia es con la SEQ ID NO:4. Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene la secuencia de ARNr 16s representada por la SEQ ID NO:4.

En determinadas modalidades, la composición de la invención se utiliza para administración por vía oral. La administración oral de las cepas de la invención puede ser eficaz para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota. Asimismo, la administración oral es conveniente para sujetos y profesionales y permite el suministro al intestino y/o su colonización parcial o total.

En determinadas modalidades, la composición de la invención comprende uno o más

excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

En determinadas modalidades, la composición de la invención comprende una cepa bacteriana que ha sido liofilizada. La liofilización es una técnica efectiva y conveniente para la preparación de composiciones estables que permiten el suministro de las bacterias, y se ha demostrado que proporciona composiciones eficaces en los ejemplos.

En determinadas modalidades, la invención proporciona un producto alimenticio que comprende la composición tal como se describió anteriormente.

En determinadas modalidades, la invención proporciona una composición de vacuna que comprende la composición tal como se describió anteriormente.

De manera adicional, la invención proporciona un método para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota y, de este modo, tratar o prevenir enfermedades o trastornos asociados con una diversidad reducida de la microbiota y/o con estabilidad reducida de la microbiota, que comprende administrar una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia*.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Comparación de la microbiota en pacientes sanos y con IBS.

Figura 2: Comparación de la diversidad de la microbiota entre el Día 16 y el Día 1 para pacientes sanos y con IBS después del tratamiento con BlautiX o placebo.

Figura 3: A) Interconectividad del microbioma en pacientes sanos en el Día 1, Día 16 y al final del estudio después del tratamiento con BlautiX, B) interconectividad del microbioma en pacientes con IBS en el Día 1, Día 16 y al final del estudio después del tratamiento con BlautiX. Los resultados de interconectividad en el Día 1, Día 16 y al final del estudio para individuos sanos que se presentan en la Figura 3A también se muestran en las Figuras 3A1, 3A2 y 3A3, respectivamente. Los resultados de interconectividad en el Día 1, Día 16 y al final del estudio para pacientes con IBS que se presentan en la Figura 3B también se muestran en las Figuras 3B1, 3B2 y 3B3, respectivamente.

Figura 4: Una comparación de la inestabilidad en los perfiles de microbiota en pacientes sanos y con IBS después del tratamiento con BlautiX o placebo en A) el Día 16 y el Día 1, B) al final del estudio y en el Día 1 y C) al final del estudio y en el Día 16.

Figura 5: Comparación de la diversidad de la microbiota en diferentes momentos para pacientes sanos y con IBS después del tratamiento con BlautiX.

Figura 6: A) La red de exclusión mutua en pacientes sanos en el Día 1, Día 16 y al final del estudio después del tratamiento con BlautiX, B) la red de exclusión mutua en pacientes con IBS en el Día 1, Día 16 y al final del estudio después del tratamiento con BlautiX. Los resultados de exclusión mutua en el Día 1, Día 16 y al final del estudio para individuos sanos que se presentan en la Figura 6 A también se muestran en las Figuras 6A1, 6A2 y 6A3, respectivamente. Los resultados de exclusión mutua en el Día 1, Día 16 y al final del estudio para pacientes con IBS que se presentan en la Figura 6 B también se muestran en las Figuras 6B1, 6B2 y 6B3, respectivamente.

Figura 7: Agrupamiento jerárquico de la microbiota.

Figura 8: Comparación de los perfiles de microbiota antes (D14) y después (D32) del tratamiento con Blautix basándose en disimilitudes de Bray-Curtis.

Figura 9: (A) Visualización de los perfiles de microbiota de diferentes grupos en D-14 mediante el uso PCoA basándose en disimilitudes de Bray-Curtis. (B) Visualización de los perfiles de microbiota de los grupos en D14 mediante el uso PCoA basándose en disimilitudes de Bray-Curtis. (C) Se observó una diferencia significativa (valor $p=0,002$) en los perfiles de microbiota para el grupo con Blautix en los diferentes momentos.

Figura 10: Comparación de perfiles de microbiota para el tratamiento con Blautix en los momentos del estudio (D-14, D-1, D34) basada en disimilitudes de Bray-Curtis.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Cepas bacterianas

Las composiciones de la invención comprenden una cepa bacteriana del género *Blautia*. Los ejemplos demuestran que las bacterias de este género son útiles para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota. Las cepas bacterianas preferidas son de las especies *Blautia hydrogenotrophica*, *Blautia stercoris* y *Blautia wexlerae*. La más preferida es *Blautia hydrogenotrophica*, en particular la bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294.

Los ejemplos de cepas de *Blautia* para su uso en la invención incluyen *Blautia hydrogenotrophica*, *B. stercoris*, *B. faecis*, *B. coccoides*, *B. glucerasea*, *B. hansenii*, *B. luti*, *B. producta*, *B. schinkii* y *B. wexlerae*. Las bacterias de la especie *Blautia* son bacterias

grampositivas y no móviles que pueden ser cocoides u ovaladas y todas son organismos anaerobios obligados que producen ácido acético como producto final fundamental de la fermentación de glucosa [25]. *Blautia* puede aislarse del intestino humano, aunque se aisló *B. producta* de una muestra de septicemia.

Se ha aislado *Blautia hydrogenotrophica* (previamente conocida como *Ruminococcus hydrogenotrophicus*) del intestino de mamíferos, que es estrictamente anaerobia y metaboliza H_2/CO_2 y lo convierte en acetato, que puede ser muy importante para la nutrición y salud humana. El tipo de cepa de *Blautia hydrogenotrophica* es S5a33 = DSM 10507 = JCM 14656. El número de acceso de GenBank para la secuencia génica de ARNr 16S de la cepa S5a36 de *Blautia hydrogenotrophica* es X95624.1 (descrita en la presente como SEQ ID NO:5). Este ejemplo de cepa de *Blautia hydrogenotrophica* se describe en [25] y [26]. La cepa S5a33 y la cepa S5a36 corresponde a dos subclones de una cepa acetogénica aislada de una muestra fecal de un sujeto sano. Presentan una morfología, fisiología y metabolismo idénticos y tienen secuencias de ARNr 16S idénticas. Por lo tanto, en algunas modalidades, la *Blautia hydrogenotrophica* para su uso en la invención tiene la secuencia de ARNr 16S de la SEQ ID NO:5.

La bacteria *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507 y también con el número de acceso DSM 14294 se probó en los ejemplos y también se hace referencia a esta en la presente como cepa BH. La cepa BH se depositó en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen [Colección Alemana de Microorganismos] (Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Alemania) el 10 de mayo de 2001 como “*Ruminococcus hydrogenotrophicus*” con el número de acceso DSM 10507 y también con el número de acceso DSM 14294. El depositante fue INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand/Theix 63122, Saint Genès Champanelle, Francia. La titularidad de la bacteria depositada como DSM 10507 y DSM 14294 se transfirió mediante cesión a 4D Pharma Plc.

El número de acceso de GenBank para la secuencia génica de ARNr 16S de la cepa GAM6-1^T de *Blautia stercoris* es HM626177 (descrita en la presente como SEQ ID NO:1). Un ejemplo de cepa de *Blautia stercoris* se describe en [27]. El tipo de cepa de *Blautia wexlerae* es WAL 14507 = ATCC BAA-1564 = DSM 19850 [25]. El número de acceso de GenBank para la secuencia génica de ARNr 16S de la cepa WAL 14507 T de *Blautia wexlerae* es EF036467 (descrita en la presente como SEQ ID NO:2). Este ejemplo de la cepa de *Blautia wexlerae* se

describe en [25].

Una cepa de *Blautia stercoris* preferida es la cepa depositada con el número de acceso NCIMB 42381, a la que también se hace referencia en la presente como cepa 830. Una secuencia de ARNr 16S para la cepa 830 se proporciona en SEQ ID NO:3. La cepa 830 se depositó ante la autoridad internacional de depósito NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Escocia) por GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Escocia) el 12 de marzo de 2015 como “*Blautia stercoris* 830” y se le asignó el número de acceso NCIMB 42381. GT Biologics Ltd. cambió posteriormente su nombre a 4D Pharma Research Limited.

Una cepa de *Blautia wexlerae* preferida es la cepa depositada con el número de acceso NCIMB 42486, a la que también se hace referencia en la presente como cepa MRX008. Una secuencia de ARNr 16S para la cepa MRX008 se proporciona en SEQ ID NO:4. La cepa MRX008 fue depositada en la autoridad internacional de depósito NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Escocia) por 4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Escocia) el 16 de noviembre de 2015 como “*Blautia/Ruminococcus*” y se le asignó el número de registro NCIMB 42486.

También se espera que las cepas bacterianas estrechamente relacionadas con las cepas evaluadas en los ejemplos sean eficaces para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir estabilidad de la microbiota. En determinadas modalidades, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la secuencia de ARNr 16S de una cepa bacteriana de *Blautia hydrogenotrophica*. Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la SEQ ID NO:5. Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que tiene la secuencia de la SEQ ID NO:5.

En determinadas modalidades, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la secuencia de ARNr 16S de una cepa bacteriana de *Blautia stercoris*. Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:3. Preferentemente la identidad de secuencia es con la SEQ ID NO:3. Preferentemente, la cepa

bacteriana para su uso en la invención tiene la secuencia de ARNr 16s representada por la SEQ ID NO:3. En determinadas modalidades, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la secuencia de ARNr 16s de una cepa bacteriana de *Blautia wexlerae*.

Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene una secuencia de ARNr 16s que es al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % idéntica a la SEQ ID NO:2 o SEQ ID NO:4. Preferentemente la identidad de secuencia es con la SEQ ID NO:4. Preferentemente, la cepa bacteriana para su uso en la invención tiene la secuencia de ARNr 16s representada por la SEQ ID NO:4.

También se espera que las cepas bacterianas que son biotipos de la bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294 o biotipos de las bacterias depositadas con los números de acceso NCIMB 42381 y NCIMB 42486 sean eficaces para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota. Un biotipo es una cepa estrechamente relacionada que tiene las mismas características fisiológicas y bioquímicas o muy similares.

Las cepas que son biotipos de una bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 y que son adecuadas para el uso en la invención pueden identificarse mediante la secuenciación de otras secuencias de nucleótidos para una bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486. Por ejemplo, se puede secuenciar sustancialmente la totalidad del genoma y una cepa biotipo para su uso en la invención puede tener una identidad de secuencia de al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % en al menos 80 % de su genoma total (por ejemplo, en al menos 85 %, 90 %, 95 % o 99 %, o en su genoma total). Por ejemplo, en algunas modalidades, una cepa biotipo tiene por lo menos 98 % de identidad de secuencia en al menos 98 % de su genoma o al menos 99 % de identidad de secuencia en 99 % de su genoma. Otras secuencias adecuadas para el uso en la identificación de cepas biotipo pueden incluir secuencias hsp60 o repetitivas tales como BOX, ERIC, (GTG)₅, o REP o [28]. Las cepas de biotipo pueden tener secuencias con al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5% o 99,9 % de identidad de secuencia con la secuencia correspondiente de una bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486. En algunas modalidades una cepa de biotipo tiene una secuencia con al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %

o 99,9 % de identidad de secuencia con la secuencia correspondiente de la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294 y comprende una secuencia de ARNr 16S que es al menos 99 % idéntica (por ejemplo, al menos 99,5 % o al menos 99,9 % idéntica) a la SEQ ID NO:5. En algunas modalidades, una cepa de biotipo
5 tiene una secuencia con al menos 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % de identidad de secuencia con la secuencia correspondiente de la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294 y tiene la secuencia del ARNr 16S de SEQ ID NO:5.

De manera alternativa, las cepas que son biotipos de una bacteria depositada con el número
10 de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 y que son adecuadas para su uso en la invención pueden identificarse mediante el uso del depósito con número de acceso DSM 10507/14294, el depósito con número de acceso NCIMB 42381, o depósito con número de acceso NCIMB 42486, y análisis de fragmento de restricción y/o análisis de PCR, por
15 ejemplo mediante el uso de polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados fluorescentes (FAFLP, por sus siglas en inglés) y obtención de huella por PCR de Elementos Repetitivos (rep)-PCR o perfil de proteína o secuenciación parcial del ADNr 16S o 23s. En modalidades preferidas, dichas técnicas se pueden utilizar para identificar otras cepas de *Blautia hydrogenotrophica*, *Blautia stercoris* o *Blautia wexlerae*.

En determinadas modalidades, las cepas que son biotipos de una bacteria depositada con el
20 número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 y que son adecuadas para uso en la invención son cepas que proporcionan el mismo patrón que una bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 al analizarla mediante análisis de restricción de ADN ribosomal amplificado (ARDRA, por sus siglas en inglés), por ejemplo al usar enzima de restricción Sau3AI (por métodos de ejemplo y
25 orientación ver, por ejemplo,[29]). De manera alternativa, las cepas de biotipo se identifican como cepas que tienen los mismos patrones de fermentación de carbohidratos que la bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486.

Otras cepas de *Blautia* que son útiles en las composiciones y métodos de la invención, tales como biotipos de una bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294,
30 NCIMB 42381 o NCIMB 42486, pueden identificarse mediante el uso de cualquier método o estrategia adecuados, incluidos los ensayos descritos en los ejemplos. Por ejemplo, las cepas

para uso en la invención pueden identificarse mediante el cultivo de bacterias y administración a ratas para evaluar en el ensayo de distensión. En particular, las cepas bacterianas que tienen patrones de crecimiento, tipo metabólico y/o antígenos de superficie similares a una bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 pueden ser útiles en la invención. Una cepa útil tendrá actividad moduladora de microbiota comparable a la de la cepa DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486. En particular, una cepa de biotipo suscitará efectos similares sobre la microbiota a los efectos que se muestran en los Ejemplos, que se pueden identificar mediante el uso de los protocolos de cultivo y administración descritos en los Ejemplos.

Una cepa particularmente preferida de la invención es la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294. Este es el ejemplo de cepa BH evaluado en los ejemplos y que se observó que era eficaz para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota. Por lo tanto, la invención proporciona una célula, tal como una célula aislada, de la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, o un derivado de esta, para uso en terapia, en particular para las enfermedades y trastornos descritos en la presente.

Un derivado de la cepa depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 puede ser una cepa hija (progenie) o una cepa cultivada (subclonada) a partir de la original. Un derivado de una cepa de la invención puede modificarse, por ejemplo, a nivel genético, sin erradicar la actividad biológica. En particular, una cepa derivada de la invención es terapéuticamente activa. Una cepa derivada tendrá actividad moduladora de microbiota comparable a la de la cepa DSM 10507/14294, NCIMB 42381 o NCIMB 42486 original. En particular, una cepa derivada suscitará efectos similares sobre la microbiota a los efectos que se muestran en los Ejemplos, que se pueden identificar mediante el uso de los protocolos de cultivo y administración descritos en los Ejemplos. Un derivado de la cepa DSM 10507/14294 será generalmente un biotipo de la cepa DSM 10507/14294. Un derivado de la cepa NCIMB 42381 generalmente será un biotipo de la cepa NCIMB 42381. Un derivado de la cepa NCIMB 42486 generalmente será un biotipo de la cepa NCIMB 42486.

Las referencias a células de la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294 comprenden cualquier célula que tenga las mismas características de seguridad y eficacia terapéutica que las cepas depositadas con el número de acceso DSM

10507/14294, y dichas células se encuentran comprendidas en la invención. Las referencias a células de la cepa *Blautia stercoris* depositada con el número de acceso NCIMB 42381 comprenden cualquier célula que tenga las mismas características de seguridad y eficacia terapéutica que las cepas depositadas con el número de acceso NCIMB 42381, y dichas células se encuentran comprendidas en la invención. Las referencias a células de la cepa *Blautia wexlerae* depositada con el número de acceso NCIMB 42486 comprenden cualquier célula que tenga las mismas características de seguridad y eficacia terapéutica que las cepas depositadas con el número de acceso NCIMB 42486, y dichas células se encuentran comprendidas en la invención.

En modalidades preferidas, las cepas bacterianas en las composiciones de la invención son viables y pueden colonizar parcial o completamente el intestino.

Usos terapéuticos

En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota. La reducción de la diversidad de la microbiota y/o una estabilidad reducida de la microbiota se asocian con numerosas enfermedades y trastornos patológicos, y los ejemplos demuestran que las composiciones de la invención pueden ser eficaces para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota. En consecuencia, la enfermedad o trastorno que se va a tratar o prevenir mediante el uso de una composición de la invención es preferentemente una enfermedad o trastorno asociado con un nivel reducido de diversidad de la microbiota con respecto a la diversidad de la microbiota de un sujeto sano y/o una enfermedad o trastorno que está asociado con estabilidad reducida de la microbiota. Por lo tanto, en algunas modalidades, la enfermedad o trastorno puede asociarse con un nivel reducido de diversidad de la microbiota con respecto a la diversidad de la microbiota de un sujeto sano y puede asociarse además con estabilidad reducida de la microbiota.

En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno seleccionado de IBS, IBD, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias y una o más enfermedades/trastornos metabólicos. También se prevé el tratamiento o prevención de otras enfermedades y trastornos. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir IBS o IBD.

En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir IBS. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir IBD. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir una o más enfermedades alérgicas. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir la obesidad. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir una o más enfermedades infecciosas. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir una o más enfermedades autoinmunitarias. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir una o más enfermedades/trastornos metabólicos. Preferentemente, el tratamiento o prevención comprende aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota en el sujeto.

En determinadas modalidades, la enfermedad infecciosa se selecciona de una enfermedad viral, bacteriana o fúngica. En determinadas modalidades, la enfermedad alérgica es asma. En determinadas modalidades, la enfermedad/trastorno metabólico se selecciona de diabetes, por ejemplo, diabetes tipo 2 y obesidad. En determinadas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria se selecciona de esclerosis múltiple y artritis reumatoide.

En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir IBS, IBD, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias o una o más enfermedades/trastornos metabólicos mediante el aumento de la diversidad de la microbiota. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir IBS o IBD mediante la inducción de la estabilidad de la microbiota. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se utilizan para tratar o prevenir IBS mediante la inducción de la estabilidad de la microbiota.

En modalidades preferidas, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* para su uso en el tratamiento o prevención de IBD, IBS, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias, o una o más enfermedades/trastornos autoinmunitarios, donde el tratamiento o prevención comprende aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota en el sujeto.

En algunas modalidades, la invención proporciona una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia* para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno seleccionado de IBS, IBD, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias y una o más enfermedades/trastornos metabólicos. En algunas modalidades, la invención proporciona un método para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno seleccionado de IBS, IBD, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias y una o más enfermedades/trastornos metabólicos que comprende administrar una composición que comprende una cepa bacteriana del género *Blautia*.

En modalidades preferidas, las composiciones de la invención comprenden la bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294 y se utilizan para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota en el sujeto en el tratamiento de IBD, IBS, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias, o una o más enfermedades/trastornos metabólicos. En modalidades preferidas adicionales, las composiciones de la invención comprenden la bacteria depositada con el número de acceso DSM 10507/14294 y se utilizan para tratar o prevenir IBD, IBS, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias o una o más enfermedades/trastornos metabólicos al inducir la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota.

En algunas modalidades, la patogénesis de la enfermedad o trastorno afecta el intestino. En algunas modalidades, la patogénesis de la enfermedad o trastorno no afecta el intestino. En algunas modalidades, la patogénesis de la enfermedad o trastorno no se localiza en el intestino. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención se produce en un sitio diferente al intestino. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención se produce en el intestino y, además, en un sitio diferente al intestino. En determinadas modalidades, la enfermedad o trastorno es sistémico.

En determinadas modalidades, las composiciones se utilizan en sujetos que presentan o se espera que presenten niveles reducidos de diversidad de la microbiota, por ejemplo, cuando se comparan con un sujeto sano o una población de sujetos sanos. Por ejemplo, en algunas

modalidades, la composición se utiliza en el tratamiento de un sujeto que tiene menos de 101 especies bacterianas diferentes (por ejemplo, menos de 100, 99, 98, 97, 96, 95, 93, 90, 85, 80, 75 o 70 especies bacterianas) y/o menos de 195 cepas diferentes (por ejemplo, menos de 193, 190, 187, 185, 183, 180, 175, 170, 165, 160, 150, 140 cepas bacterianas) en su microbiota. Por ejemplo, en algunas modalidades, las composiciones se utilizan en el tratamiento de un sujeto que tiene al menos un género bacteriano (por ejemplo., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 géneros bacterianos) menos en su microbiota intestinal en comparación con un sujeto sano o en comparación con una población de sujetos sanos. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención comprende una etapa de diagnóstico de un sujeto con un nivel reducido de diversidad de la microbiota y, entonces, si se halla un nivel reducido de diversidad, el sujeto se trata con una composición de acuerdo con la invención.

En determinadas modalidades, las composiciones se utilizan en sujetos que presentan o se espera que presenten una estabilidad reducida de la microbiota. En algunas modalidades, las composiciones se utilizan en sujetos que presentan o se espera que presenten estabilidad reducida en su microbiota, por ejemplo, cuando se comparan con un sujeto sano o una población de sujetos sanos. En algunas modalidades, el tratamiento o prevención comprende una etapa de diagnóstico de un sujeto con estabilidad reducida en la microbiota y, entonces, si se halla una estabilidad reducida, el sujeto se trata con una composición de acuerdo con la invención.

En determinadas modalidades, el sujeto es un bebé. En determinadas modalidades, el sujeto es un niño. En determinadas modalidades, el sujeto es un adulto.

En ciertas realizaciones, el sujeto es un sujeto sano. Por ejemplo, en algunas modalidades en las cuales la composición se utiliza para prevenir una en algunas modalidades o trastorno, el sujeto es un sujeto sano, opcionalmente un sujeto que se identificó que tenía riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno caracterizado por una reducción en la diversidad de la microbiota.

En determinadas modalidades, el sujeto recibió anteriormente, recibe actualmente o va a recibir tratamiento antibiótico. Por consiguiente, en algunas modalidades, el tratamiento o prevención comprende la administración de la composición de la invención después, al mismo tiempo o antes que el tratamiento antibiótico. La composición de la invención y el antibiótico pueden administrarse por separado, de forma simultánea o secuencial.

En algunas modalidades, la composición de la invención se utiliza en un método para aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota en un sujeto que tiene un nivel elevado de hidrógeno en su aliento en comparación con un sujeto sano. En algunas modalidades, la composición de la invención se utiliza para reducir el nivel de hidrógeno en el aliento de un sujeto que presenta o se espera que presente un nivel reducido de diversidad de su microbiota y/o estabilidad reducida de la microbiota. El sujeto es preferentemente un sujeto al que se le diagnosticó que tenía IBS, IBD, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias y/o una o más enfermedades/trastornos metabólicos. El tratamiento con una composición de la invención reduce el nivel de hidrógeno detectado en las pruebas de hidrógeno en el aliento. Por consiguiente, los niveles de hidrógeno se evalúan preferentemente mediante una prueba de hidrógeno en el aliento. La prueba de hidrógeno en el aliento es conocida en la técnica y por lo tanto el experto en la técnica sabrá cómo realizar dicha prueba. En algunas modalidades, al sujeto se le administra lactulosa como sustrato para la prueba.

La prueba de hidrógeno en el aliento también es una herramienta útil para monitorear la eficacia o la probabilidad de eficacia de aumentar la diversidad de la microbiota y/o inducir la estabilidad de la microbiota y del tratamiento o prevención mediante el uso de una composición de la invención. Por ejemplo, una reducción del nivel de hidrógeno detectado en el aliento de un sujeto después del tratamiento con una composición de la invención puede indicar que el tratamiento tiene un efecto de aumento, estabilización, terapéutico o preventivo. Por consiguiente, en algunas modalidades, los métodos y los usos de la invención comprenden, además, monitorear el nivel de hidrógeno en el aliento de un sujeto durante y/o después del tratamiento con una composición de la invención y evaluar de ese modo la eficacia o la probabilidad de eficacia de aumentar, estabilizar, tratar o prevenir. Por ejemplo, los niveles de hidrógeno se pueden monitorear una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más de 4) veces, por ejemplo, incluso antes del tratamiento, en el inicio del tratamiento, durante el tratamiento, al final del tratamiento y/o después del tratamiento, según se desee. En algunas modalidades, el nivel de hidrógeno en el aliento del sujeto al final y/o después del período de dosificación (durante el cual la composición se administra al sujeto) se compara con el nivel al inicio y/o antes del período de dosificación y una reducción del nivel indica la eficacia o la

probabilidad de eficacia de aumentar, estabilizar, tratar o prevenir. Por ejemplo, en algunas modalidades en las cuales el período de dosificación es de 16 días, es posible que sea deseable tomar mediciones en el día 1 y el día 16 o, por ejemplo, en el día 1, el día 2, el día 15 y el día 16. En algunas modalidades, se toman múltiples mediciones y se obtiene el promedio de esas mediciones (por ejemplo, el promedio del día 1 y el día 2 y el promedio del día 15 y el día 16). En algunas modalidades, una reducción de al menos 40 ppm en Cmax del nivel de hidrógeno indica que aumento, estabilización, tratamiento o prevención es eficaz o es probable que sea eficaz. En algunas modalidades, el nivel de hidrógeno en el aliento del sujeto se mide solamente una vez, por ejemplo, al final o después del tratamiento, y el hallazgo de que el nivel está en un nivel predeterminado o cerca de este indica que el aumento, estabilización, tratamiento o predeterminad es probable que haya sido eficaz. La prueba de hidrógeno en el aliento es un ensayo estándar y por lo tanto se conocen niveles predeterminados en la técnica.

El tratamiento o prevención puede hacer referencia, por ejemplo, a un alivio de la gravedad de los síntomas o una reducción en la frecuencia de las exacerbaciones o el rango de desencadenantes que son un problema para el paciente.

Las bacterias de la microbiota se pueden detectar en las heces de un sujeto mediante el uso de técnicas estándar, tales como las técnicas de qPCR utilizadas en los ejemplos.

Modos de administración

Preferentemente, las composiciones de la presente invención se administrarán al tracto gastrointestinal con el fin de permitir el suministro hacia el intestino y/o la colonización parcial o total de este con la cepa bacteriana de la invención. En general, las composiciones de la invención son administradas por vía oral, pero pueden ser administradas por vía rectal, intranasal o vía bucal o sublingual.

En determinadas modalidades, las composiciones de la invención pueden ser administradas como una espuma, como un aerosol o un gel.

En determinadas modalidades, las composiciones de la invención pueden administrarse como un supositorio, tal como un supositorio rectal, por ejemplo, en la forma de un aceite de teobroma (manteca de cacao), grasa dura sintética (por ejemplo, suppocire, witepsol), glicerogelatina, polietilenglicol o composición de glicerina de jabón.

En determinadas modalidades, la composición de la invención es administrada al tracto

gastrointestinal mediante un tubo, tal como un tubo nanogástrico, tubo orogástrico, tubo gástrico, tubo de yeyunostomía (tubo J), gastrostomía endoscópica percutánea (GEP), o un puerto, tal como un puerto de la pared torácica que proporciona acceso al estómago, al yeyuno y otros puertos de acceso adecuados.

5 Las composiciones de la invención pueden administrarse una vez o pueden administrarse de forma secuencial como parte de un régimen de tratamiento. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se administrarán de forma diaria. Los ejemplos demuestran que la administración diaria proporciona una administración satisfactoria y beneficios clínicos. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención se administran
10 regularmente, tal como de forma diaria, cada dos días, o de manera semanal, durante un período prolongado de tiempo, tal como durante al menos una semana, dos semanas, un mes, dos meses, seis meses o un año. Los ejemplos demuestran que la administración de *B. hydrogenotrophica* puede no dar como resultado una colonización permanente de los intestinos, de modo que la administración regular durante períodos prolongados de tiempo
15 puede proporcionar mayores beneficios terapéuticos y/o profilácticos.

En determinadas modalidades de la invención, el tratamiento de acuerdo con la invención se acompaña por la evaluación de la microbiota intestinal del sujeto. El tratamiento puede repetirse si el suministro de la cepa de la invención y/o la colonización parcial o total de esta
20 no se logra, de modo que no se observa eficacia, o el tratamiento puede interrumpirse si el suministro y/o la colonización parcial o total son exitosos y se observa eficacia.

En determinadas modalidades, la composición de la invención se puede administrar a un animal preñado, por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano, con el fin de prevenir que se desarrollen niveles reducidos de diversidad de la microbiota y/o estabilidad reducida de la microbiota en la cría en el útero y/o después del nacimiento.

25 Las composiciones de la invención se pueden administrar a un sujeto al que se le haya diagnosticado diversidad reducida de la microbiota en comparación con un sujeto sano y/o estabilidad reducida de la microbiota, o una enfermedad o trastorno asociado con diversidad reducida de la microbiota en comparación con un sujeto sano y/o estabilidad reducida de la microbiota, o que se haya identificado como en riesgo de diversidad reducida de la microbiota
30 en comparación con un sujeto sano y/o estabilidad reducida de la microbiota. Las composiciones también se pueden administrar como una medida profiláctica para prevenir el

desarrollo de diversidad reducida de la microbiota en comparación con un sujeto sano y/o estabilidad reducida de la microbiota en un sujeto sano.

Las composiciones de la invención se pueden administrar a un sujeto que se haya identificado que tiene una microbiota intestinal anómala. Por ejemplo, el sujeto puede tener la colonización por *Blautia* reducida o ausente, y en particular *Blautia hydrogenotrophica*, *Blautia stercoris* o *Blautia wexlerae*.

Las composiciones de la invención pueden administrarse como un producto alimenticio, tal como un complemento nutricional.

En general, las composiciones de la invención se utilizan para el tratamiento de seres humanos, aunque también se pueden utilizar para tratar animales, incluso mamíferos monogástricos tales como aves, cerdos, gatos, perros, caballos o conejos. Las composiciones de la invención pueden ser útiles para mejorar el crecimiento y desempeño de los animales. Si se administran a animales, se puede utilizar una sonda gástrica oral.

Composiciones

En general, la composición de la invención comprende bacterias. En modalidades preferidas de la invención, la composición se formula en forma liofilizada. Por ejemplo, la composición de la invención puede comprender gránulos o cápsulas de gelatina, por ejemplo, cápsulas de gelatina dura, que comprenden una cepa bacteriana de la invención.

Preferentemente, la composición de la invención comprende bacterias liofilizadas. La liofilización de bacterias es un procedimiento consolidado y se pueden encontrar lineamientos pertinentes disponibles, por ejemplo, en las referencias [30-32]. Los ejemplos demuestran que las composiciones liofilizadas son particularmente eficaces.

De manera alternativa, la composición de la invención puede comprender un cultivo bacteriano activo vivo.

En algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención no ha sido inactivada, por ejemplo, no ha sido inactivada por calor. En algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención no ha sido destruida, por ejemplo, no ha sido destruida por calor. En algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención no ha sido atenuada, por ejemplo, no ha sido atenuada por calor. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención no ha sido destruida, inactivada y/o atenuada. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cepa bacteriana

en la composición de la invención está viva. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención es viable. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención puede colonizar de forma parcial o total el intestino. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cepa bacteriana en la composición de la invención es viable y puede colonizar de forma parcial o total el intestino.

En algunas modalidades, la composición comprende una mezcla de cepas bacterianas vivas y cepas bacterianas que han sido destruidas.

En modalidades preferidas, la composición de la invención está encapsulada para permitir el suministro de la cepa bacteriana en el intestino. La encapsulación protege la composición de la degradación hasta el suministro en la ubicación objetivo mediante, por ejemplo, la ruptura de estímulos químicos o físicos tales como presión, actividad enzimática o desintegración física, que pueden desencadenarse por los cambios en el pH. Se puede utilizar cualquier método de encapsulación adecuado. Las técnicas de encapsulación de ejemplo incluyen atrapamiento dentro de una matriz porosa, unión o adsorción en las superficies del portador sólido, autoagregación mediante floculación o con agentes reticulantes y contención mecánica detrás de una membrana microporosa o una microcápsula. Los lineamientos sobre la encapsulación que pueden ser útiles para preparar las composiciones de la invención se encuentran disponibles, por ejemplo, en las referencias [33] y [34].

La composición puede administrarse por vía oral y puede estar en forma de un comprimido, cápsula o polvo. Se prefieren los productos encapsulados porque *Blautia* son anaerobios. Se pueden incluir otros ingredientes (tal como la vitamina C, por ejemplo) como depuradores de oxígeno y sustratos prebióticos para mejorar el suministro y/o la colonización parcial o total y la supervivencia *in vivo*. De manera alternativa, la composición probiótica de la invención puede administrarse oralmente como un alimento o producto nutricional, tal como leche o productos lácteos fermentados a base de suero de leche, o como un producto farmacéutico.

La composición se puede formular como un probiótico.

Una composición de la invención incluye una cantidad terapéuticamente eficaz de una cepa bacteriana de la invención. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una cepa bacteriana es suficiente para ejercer un efecto beneficioso en un sujeto. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una cepa bacteriana puede ser suficiente para resultar en el suministro hacia el intestino del sujeto y/o la colonización parcial o total de este.

Una dosis diaria adecuada de las bacterias, por ejemplo para un humano adulto, puede ser desde alrededor de 1×10^3 hasta alrededor de 1×10^{11} unidades formadoras de colonias (CFU, por sus siglas en inglés); por ejemplo, desde alrededor de 1×10^7 hasta alrededor de 1×10^{10} CFU; en otro ejemplo, desde alrededor de 1×10^7 hasta alrededor de 1×10^{11} CFU; en otro ejemplo, desde alrededor de 1×10^8 hasta alrededor de 1×10^{10} CFU; en otro ejemplo, desde alrededor de 1×10^8 a alrededor de 1×10^{11} CFU; en otro ejemplo, desde alrededor de 1×10^6 a alrededor de 1×10^{10} CFU.

En determinadas modalidades, la dosis de las bacterias es al menos 10^9 células por día, tal como al menos 10^{10} , al menos 10^{11} o al menos 10^{12} células por día.

En determinadas modalidades, la composición contiene la cepa bacteriana en una cantidad de alrededor de 1×10^6 a alrededor de 1×10^{11} CFU/g, con respecto al peso de la composición; por ejemplo, de alrededor de 1×10^8 a alrededor de 1×10^{10} CFU/g. La dosis puede ser, por ejemplo, 1 g, 3 g, 5 g y 10 g.

Por lo general, un probiótico, tal como la composición de la invención, se combina opcionalmente con al menos un compuesto prebiótico adecuado. Un compuesto prebiótico es usualmente un carbohidrato no digerible tal como un oligo o polisacárido, o un alcohol de azúcar, que no se degrada ni absorbe en el tracto digestivo superior. Los prebióticos conocidos incluyen productos comerciales tales como inulina y transgalacto-oligosacáridos.

En determinadas modalidades, la composición probiótica de la presente invención incluye un compuesto prebiótico en una cantidad de alrededor de 1 a alrededor de 30 % en peso, con respecto al peso total de la composición, (por ejemplo, de alrededor de 5 a 20 % en peso). Los carbohidratos se pueden seleccionar del grupo que consiste en: fructooligosacáridos (o FOS), fructooligosacáridos de cadena corta, inulina, isomalto-oligosacáridos, pectinas, xilooligosacáridos (o XOS), quitooligosacáridos (o COS), betaglucanos, almidones resistentes y modificados con goma arábica, polidextrosa, D-tagatosa, fibras de acacia, algarroba, avena y fibras cítricas. En un aspecto, los prebióticos son los fructo-oligosacáridos de cadena corta (por simplicidad se muestran en adelante como FOS-c.c); dichos FOS-c.c. no son carbohidratos digeribles, generalmente se obtienen por la conversión de azúcar de remolacha e incluyen una molécula de sacarosa a la que se unen tres moléculas de glucosa.

Las composiciones de la invención pueden comprender excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de esos excipientes adecuados pueden

encontrarse en la referencia [35]. Los portadores o diluyentes aceptables para su uso terapéutico son muy conocidos en la técnica farmacéutica y se describen, por ejemplo, en la referencia [36]. Los ejemplos de portadores adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen etanol, glicerol y agua. El diluyente, excipiente o portador farmacéutico se puede seleccionar conforme a la vía de administración deseada y la práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como portador, excipiente o diluyente, o además de estos, todo aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento y/o agente solubilizante. Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa en flujo libre, beta-lactosa, endulzantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol. Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Se pueden proporcionar conservantes, estabilizantes, tintes e incluso agentes saborizantes en la composición farmacéutica. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También se pueden usar antioxidantes y agentes de suspensión. Otro ejemplo de un portador adecuado es sacarosa. Otro ejemplo de un conservante es cisteína.

Las composiciones de la invención pueden formularse como un producto alimenticio. Por ejemplo, un producto alimenticio puede proporcionar un beneficio nutricional además del efecto terapéutico de la invención, tal como en un complemento nutricional. De manera similar, un producto alimenticio puede formularse para mejorar el sabor de la composición de la invención o para hacer la composición más atractiva para su consumo siendo más similar a un artículo alimenticio común, en lugar de a una composición farmacéutica. En determinadas modalidades, la composición de la invención se formula como un producto a base de leche. La expresión “producto a base de leche” significa cualquier líquido o producto a base de suero de leche o leche semisólida que tiene un contenido graso 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, tal como yogur, leche cuajada, cuajada, leche agria,

leche entera agria, suero de manteca y otros productos de leche agria. Otro grupo importante incluye bebidas lácteas, tales como bebidas de suero de leche, leches fermentadas, leches condensadas, leche para bebés o para infantes; leches saborizadas, helado; alimentos que contienen leche, tales como dulces.

5 En determinadas modalidades, las composiciones de la invención contienen una única especie o cepa bacteriana y no contienen ninguna otra especie o cepa bacteriana. Dichas composiciones pueden comprender solamente cantidades biológicamente irrelevantes o mínimas de cepas bacterianas o especies. Dichas composiciones pueden ser un cultivo o liofilizado que esté sustancialmente libre de otras especies de organismos.

10 En determinadas modalidades, las composiciones de la invención comprenden una o más cepas bacterianas del género *Blautia*, por ejemplo, *Blautia hydrogenotrophica*, y no contienen ningún otro género bacteriano o comprenden solamente cantidades mínimas o biológicamente irrelevantes de bacterias de otro género. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención comprenden una única especie de *Blautia*, por ejemplo, *Blautia*
 15 *hydrogenotrophica* y no contienen ninguna otra especie bacteriana o comprenden solamente cantidades mínimas o biológicamente irrelevantes de bacterias de otra especie. En determinadas modalidades, las composiciones de la invención comprenden una única cepa de *Blautia*, por ejemplo, *Blautia hydrogenotrophica*, y no contienen ninguna otra especie o cepa bacteriana, o comprenden solamente cantidades mínimas o biológicamente irrelevantes de
 20 bacterias de otra especie o cepa.

En algunas modalidades, las composiciones de la invención comprenden más de una especie o cepa bacteriana. Por ejemplo, en algunas modalidades, las composiciones de la invención comprenden más de una cepa de la misma especie (por ejemplo, más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 o 45 cepas) y, de manera opcional, no contienen bacterias de
 25 ninguna otra especie. En algunas modalidades, las composiciones de la invención comprenden menos de 50 cepas de la misma especie (por ejemplo, menos de 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 o 3 cepas) y, de manera opcional, no contienen bacterias de ninguna otra especie. En algunas modalidades, las composiciones de la invención comprenden 1-40, 1-30, 1-20, 1-19, 1-18, 1-15, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 2-50,
 30 2-40, 2-30, 2-20, 2-15, 2-10, 2-5, 6-30, 6-15, 16-25 o 31-50 cepas de la misma especie y, de manera opcional, no contienen bacterias de ninguna otra especie. En algunas modalidades,

las composiciones de la invención comprenden más de una especie del mismo género (por ejemplo, más de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 23, 25, 30, 35 o 40 especies) y, de manera opcional, no contienen bacterias de ningún otro género. En algunas modalidades, las composiciones de la invención comprenden menos de 50 especies del mismo género (por ejemplo, menos de 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 8, 7, 6, 5, 4 o 3 especies) y, de manera opcional, no contienen bacterias de ningún otro género. En algunas modalidades, las composiciones de la invención comprenden 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-15, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 2-50, 2-40, 2-30, 2-20, 2-15, 2-10, 2-5, 6-30, 6-15, 16-25 o 31-50 especies del mismo género y, de manera opcional, no contienen bacterias de ningún otro género. La invención comprende cualquier combinación de lo anterior.

En algunas modalidades, la composición comprende un consorcio microbiano. Por ejemplo, en algunas modalidades, la composición comprende la cepa bacteriana de *Blautia*, por ejemplo, una cepa bacteriana *Blautia hydrogenotrophica* como parte de un consorcio microbiano. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cepa bacteriana de *Blautia* se encuentra presente en combinación con otra u otras (por ejemplo, al menos 2, 3, 4, 5, 10, 15 o 20) cepas bacterianas de otros géneros con las que puede vivir de manera simbiótica *in vivo* en el intestino. Por ejemplo, en algunas modalidades, la composición comprende una cepa bacteriana de *Blautia hydrogenotrophica* en combinación con una cepa bacteriana de un género diferente. En algunas modalidades, el consorcio microbiano comprende dos o más cepas bacterianas obtenidas de una muestra fecal de un único organismo, por ejemplo, un ser humano. En algunas modalidades, el consorcio microbiano no se encuentra junto en la naturaleza. Por ejemplo, en algunas modalidades, el consorcio microbiano comprende cepas bacterianas obtenidas de muestras fecales de al menos dos organismos diferentes. En algunas modalidades, los dos organismos diferentes son de la misma especie, por ejemplo, dos seres humanos diferentes. En algunas modalidades, los dos organismos diferentes son un infante humano y un ser humano adulto. En algunas modalidades, los dos organismos diferentes son un ser humano y un mamífero no humano.

En algunas modalidades, la composición de la invención comprende adicionalmente una cepa bacteriana que tiene las mismas características de seguridad y de eficacia terapéutica que la cepa *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507/14294, pero que no es la cepa de *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM

10507/14294, o que no es una *Blautia hydrogenotrophica* o que no es una *Blautia*.

En algunas modalidades en las que la composición de la invención comprende más de un género, especie o cepa bacteriana, el género, especie o cepa bacteriana pueden ser para administración separada, simultánea o secuencial. Por ejemplo, la composición puede comprender todos los géneros, especies o cepas bacterianas, o los géneros, especies o cepas bacterianas pueden almacenarse separadamente y pueden administrarse de forma separada, simultánea o secuencial. En algunas modalidades, el o los géneros, especies o cepas bacterianas se almacenan de forma separada, pero se mezclan antes de su uso.

En algunas modalidades, la cepa bacteriana para su uso en la invención se obtiene de heces de un ser humano adulto. En algunas modalidades en las que la composición de la invención comprende más de una cepa bacteriana, todas las cepas bacterianas se obtienen de heces de un ser humano adulto o, si otras cepas bacterianas están presentes, están presentes únicamente en cantidades mínimas. En algunas modalidades, las bacterias pueden haberse cultivado posteriormente a su obtención a partir de heces de un ser humano adulto y su uso en una composición de la invención.

En algunas modalidades, la o las cepas bacterianas de *Blautia* son los únicos agentes terapéuticamente activos en una composición de la invención. En algunas modalidades, la o las cepas bacterianas en la composición son los únicos agentes terapéuticamente activos en una composición de la invención.

Las composiciones para su uso de acuerdo con la invención pueden requerir, o no, aprobación comercial.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde dicha cepa bacteriana está liofilizada. En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde dicha cepa bacteriana está secada por aspersión. En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la cepa bacteriana está liofilizada o secada por aspersión y donde está viva. En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la cepa bacteriana está liofilizada o secada por aspersión y donde es viable. En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la cepa bacteriana está liofilizada o secada por aspersión y donde puede colonizar parcial o completamente el intestino. En determinadas modalidades, la

invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la cepa bacteriana está liofilizada o secada por aspersión y donde es viable y puede colonizar parcial o completamente el intestino.

En algunos casos, la cepa bacteriana liofilizada o secada por aspersión se reconstituye antes de su administración. En algunos casos, la reconstitución es mediante el uso de un diluyente descrito en la presente.

Las composiciones de la invención pueden comprender excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

En determinadas modalidades, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende: una cepa bacteriana, tal como se usa en la invención; un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable; donde la cepa bacteriana se encuentra en una cantidad suficiente para aumentar la diversidad de la microbiota en un sujeto y/o inducir estabilidad de la microbiota y/o tratar un trastorno asociado con diversidad reducida de la microbiota y/o estabilidad reducida de la microbiota cuando se le administra al sujeto que lo necesita, diversidad de la microbiota, por ejemplo, una enfermedad o trastorno, tales como IBS, IBD, obesidad, diabetes tipo 2, una o más enfermedades infecciosas, una o más enfermedades alérgicas, una o más enfermedades autoinmunitarias o una o más enfermedades/trastornos metabólicos.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la cantidad de la cepa bacteriana es desde alrededor de 1×10^3 hasta alrededor de 1×10^{11} unidades formadoras de colonias por gramo con respecto a un peso de la composición.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la composición se administra a una dosis de 1 g, 3 g, 5 g o 10 g.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde la composición se administra mediante un método seleccionado del grupo que consiste en administración oral, rectal, subcutánea, nasal, bucal y sublingual.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, que comprende un portador seleccionado del grupo que consiste en lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol y sorbitol.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, que comprende un diluyente seleccionado del grupo que consiste en etanol, glicerol y agua.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, que comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en almidón, gelatina, glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, betalactosa, edulcorante de maíz, goma arábica, tragacanto, alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, oleato de sodio, 5 estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio y cloruro de sodio.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, que comprende además al menos uno de un conservante, un antioxidante y un estabilizante.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, 10 que comprende un conservante seleccionado del grupo que consiste en benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, donde dicha cepa bacteriana está liofilizada.

En determinadas modalidades, la invención proporciona la composición farmacéutica anterior, 15 donde cuando la composición se almacena en un recipiente sellado a alrededor de 4 °C o alrededor de 25 °C y el recipiente se coloca en una atmósfera que tiene 50 % de humedad relativa, al menos 80 % de la cepa bacteriana, medida en unidades formadoras de colonias, permanece después de un período de al menos alrededor de: 1 mes, 3 meses, 6 meses, 1 año, 1,5 años, 2 años, 2,5 años o 3 años.

En algunas modalidades, la composición de la presente invención se proporciona en un 20 recipiente sellado que comprende una composición tal como se describe en la presente. En algunas modalidades, el recipiente sellado es una bolsa o botella. En algunas modalidades, la composición de la presente invención se proporciona en una jeringa que comprende una composición tal como se describe en la presente.

La composición de la presente invención puede, en algunas modalidades, proporcionarse 25 como una formulación farmacéutica. Por ejemplo, la composición se puede proporcionar como un comprimido o cápsula. En algunas modalidades, la cápsula es una cápsula de gelatina ("gel-cap").

En algunas modalidades, las composiciones de la invención se administran de forma oral. La 30 administración oral puede implicar ingerir el compuesto para que este ingrese en el tracto gastrointestinal y/o una administración bucal, lingual o sublingual por medio de la cual el

compuesto ingrese en el torrente sanguíneo directamente desde la boca.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral incluyen tapones sólidos, micropartículas sólidas, semisólidas y líquidas que incluyen fases múltiples o sistemas dispersos) tales como comprimidos; cápsulas duras o blandas que contienen multi o nano partículas, líquidos (por ejemplo, soluciones acuosas), emulsiones o polvos; grageas (que incluyen las rellenas de líquido); caramelos masticables; geles; formas de dosificación de dispersión rápida; películas; óvulos; pulverizadores; y parches bucales/mucoadhesivos.

En algunas modalidades, la formulación farmacéutica es una formulación entérica, es decir, una formulación gastrorresistente (por ejemplo, resistente al pH gástrico) que es adecuada para el suministro de la composición de la invención al intestino mediante administración oral. Las formulaciones entéricas pueden ser particularmente útiles cuando las bacterias u otro componente de la composición son sensibles al ácido, por ejemplo, vulnerables a la degradación en condiciones gástricas.

En algunas modalidades, la formulación entérica comprende un recubrimiento entérico. En algunas modalidades, la formulación es una forma de dosificación recubierta entérica. Por ejemplo, la formulación puede ser un comprimido recubierto entérico o una cápsula recubierta entérica, o similar. El recubrimiento entérico puede ser un recubrimiento entérico convencional, por ejemplo, un recubrimiento convencional para un comprimido, una cápsula, o similar para suministro oral. La formulación puede comprender un recubrimiento de película, por ejemplo, una capa de película fina de un polímero entérico, por ejemplo, un polímero insoluble en ácido.

En algunas modalidades, la formulación entérica es intrínsecamente entérica, por ejemplo, gastrorresistente sin necesidad de un recubrimiento entérico. Por lo tanto, en algunas modalidades, la formulación es una formulación entérica que no comprende un recubrimiento entérico. En algunas modalidades, la formulación es una cápsula hecha a partir de un material termogelificante. En algunas modalidades, el material termogelificante es un material celulósico, tal como metilcelulosa, hidroximetilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). En algunas modalidades, la cápsula comprende una cubierta que no contiene ningún polímero formador de película. En algunas modalidades, la cápsula comprende una cubierta y la cubierta comprende hidroxipropilmetilcelulosa y no comprende ningún polímero formador de películas (por ejemplo, véase [37]). En algunas modalidades, la formulación es una cápsula

intrínsecamente entérica (por ejemplo, Vcaps® de Capsugel).

En algunas modalidades, la formulación es una cápsula blanda. Las cápsulas blandas son cápsulas que, debido a las adiciones de suavizantes, tales como, por ejemplo, glicerol, sorbitol, maltitol y polietilenglicoles, presentes en la cubierta de la cápsula, pueden tener una determinada elasticidad y suavidad. Las cápsulas blandas pueden producirse, por ejemplo, sobre la base de gelatina o almidón. Las cápsulas suaves de base gelatina están comercialmente disponibles de diversos proveedores. Dependiendo del método de administración, tal como, por ejemplo, de forma oral o rectal, las cápsulas blandas pueden tener varias formas que pueden ser, por ejemplo, redonda, oval, oblonga o en forma de torpedo. Las cápsulas blandas pueden producirse por medio de procesos convencionales, tales como, por ejemplo, mediante el proceso Scherer, el proceso Accogel o el proceso de soplado o por gota a gota.

Métodos de cultivo

Las cepas bacterianas para su uso en la presente invención pueden cultivarse mediante el uso de técnicas de microbiología estándares tal como se detalla, por ejemplo, en las referencias [38-40].

El medio sólido o líquido utilizado para el cultivo puede ser agar YCFA o medio YCFA. El medio YCFA puede incluir (por 100 ml, valores aproximados): Casitona (1,0 g), extracto de levadura (0,25 g), NaHCO_3 (0,4 g), cisteína (0,1 g), K_2HPO_4 (0,045 g), KH_2PO_4 (0,045 g), NaCl (0,09 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,09 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,009 g), CaCl_2 (0,009 g), resazurina (0,1 mg), hemina (1 mg), biotina (1 μg), cobalamina (1 μg), ácido *p*-aminobenzoico (3 μg), ácido fólico (5 μg) y piridoxamina (15 μg).

Cepas bacterianas para usar en composiciones de vacuna

Los inventores han identificado que las cepas bacterianas de la invención son útiles para tratar o prevenir enfermedades o trastornos asociados con un nivel de diversidad de la microbiota reducido en comparación con la diversidad de la microbiota de un sujeto sano (o en comparación con la diversidad de la microbiota de una población de sujetos sanos) y/o enfermedades o trastornos que se asocian con estabilidad reducida de la microbiota en comparación con un sujeto sano (o en comparación con una población de sujetos sanos). Esto probablemente sea el resultado del efecto que las cepas bacterianas de la invención tienen sobre el sistema inmunitario del hospedador. Por lo tanto, las composiciones de la invención

también pueden ser útiles para prevenir dichos trastornos o enfermedades cuando se administran como composiciones de vacuna. En determinadas de dichas modalidades, las cepas bacterianas de la invención son viables. En determinadas de dichas modalidades, las cepas bacterianas de la invención son capaces de colonizar parcial o completamente el intestino. En determinadas de dichas modalidades, las cepas bacterianas de la invención son viables y capaces de colonizar parcial o completamente el intestino. En otras determinadas de dichas modalidades, las cepas bacterianas de la invención se pueden destruir, inactivar o atenuar. En determinadas de dichas modalidades, las composiciones pueden comprender un adyuvante de vacuna. En determinadas modalidades, las composiciones se utilizan para la administración mediante inyección, tal como mediante inyección subcutánea.

General

La puesta en práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química, bioquímica, biología molecular, inmunología y farmacología, dentro de los conocimientos en la técnica. Dichas técnicas se explican en su totalidad en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, las referencias [41] y [42-48], etc.

El término “comprende” abarca “incluye”, así como también “consiste”, por ejemplo, una composición que “comprende” X puede consistir exclusivamente en X o puede incluir algo adicional, por ejemplo, X + Y.

La expresión “alrededor de” en relación con un valor numérico x es opcional y significa, por ejemplo, $x \pm 10\%$.

La palabra “sustancialmente” no excluye “completamente”, por ejemplo, una composición “sustancialmente libre” de Y puede encontrarse completamente libre de Y. Cuando sea necesario, la palabra “sustancialmente” puede omitirse de la definición de la invención.

Las referencias a un porcentaje de identidad de secuencia entre dos secuencias de nucleótidos significan que, cuando están alineadas, dicho porcentaje de nucleótidos es el mismo al comparar las dos secuencias. Esta alineación y el porcentaje de homología o identidad de secuencia pueden determinarse mediante el uso de programas de software conocidos en la técnica, por ejemplo, aquellos que se describen en la sección 7.7.18 de la ref. [49]. Una alineación preferida se determina por medio del algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman usando una búsqueda afín de huecos con una penalización de apertura de hueco de 12 y una penalización por extensión de hueco de 2, matriz BLOSUM de

62. El algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman se describe en la ref. [50].

A menos que se indique específicamente, un proceso o método que comprende diversas etapas puede comprender etapas adicionales al inicio o al final del método, o puede comprender etapas intermedias adicionales. Además, las etapas pueden combinarse, omitirse o llevarse a cabo en un orden alternativo, si corresponde.

En la presente se describen diversas modalidades de la invención. Se apreciará que las características especificadas en cada modalidad pueden combinarse con otras características especificadas, a fin de proporcionar modalidades adicionales. En particular, las modalidades resaltadas en la presente como adecuadas, típicas o preferidas pueden combinarse entre sí (excepto cuando sean mutuamente excluyentes).

FORMAS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

Ejemplo 1 – Cambios en la microbiota del paciente después del tratamiento con *Blautia hydrogenotrophica*

Resumen

Se evaluó el efecto de *Blautia hydrogenotrophica* sobre la diversidad y estabilidad de la microbiota en pacientes sanos y con IBS.

Metodología

Diseño del estudio

Se llevó a cabo un ensayo clínico de fase I en el cual se le administró *Blautia hydrogenotrophica* ("Blautix", cepa depositada con el número de acceso DSM 10507 y también con el número de acceso DSM 14294) a pacientes humanos que tenían IBS y pacientes humanos sanos. A los pacientes se les administró Blautix durante un período de dosificación (días 1-16) con un período de descanso entre los días 19-23. Se recogieron muestras fecales de los sujetos con IBS y sanos, tratados con Blautix o placebo: al comienzo del estudio, en el día 1 (D1) antes del tratamiento; al final del día 16 (D-16) de tratamiento; al final del estudio (EOS, por sus siglas en inglés); que fue 2-4 semanas (descanso) después del tratamiento.

Secuenciación de amplicón de 16S

Se utilizó un kit Qiagen DNeasy Blood & Tissue siguiendo las instrucciones del fabricante para extraer ADN microbiano de 0,2 g de muestras fecales congeladas de sujetos con IBS y sanos, tratados con Blautix o placebo: al comienzo del estudio, en el día 1 (D1) antes del tratamiento;

al final del día 16 (D-16) de tratamiento; al final del estudio (EOS, por sus siglas en inglés); que fue 2-4 semanas (descanso) después del tratamiento.

La preparación y la secuenciación de los amplicones del gen de ARNr 16S se realizaron utilizando el protocolo 16S Sequencing Library Preparation Nextera desarrollado por Illumina (San Diego, California, EUA). Se amplificaron 50 ng de cada uno de los extractos fecales de ADN utilizando PCR y cebadores dirigidos a la región variable V3/V4 del gen de ARNr 16S. Se purificaron los productos y se unieron los códigos de barras directos e inversos mediante un segundo ciclo de PCR adaptador. Los productos de PCR resultantes se purificaron, se cuantificaron y las cantidades equimolares de cada amplicón se agruparon antes de enviarse para su secuenciación al proveedor comercial GATC GmbH., ya sea en las plataformas MiSeq (2 × 250 pb química) o HiSeq (2 × 300 pb química).

Análisis de los datos (después de la secuenciación)

Los datos de la secuencia sin procesar se recortaron por fusión mediante el uso de la metodología flash. Esto elimina por filtración las lecturas de baja calidad. Se utilizó la metodología de tubería USEARCH (versión 8.1.1861_i86_linux64) para identificar las instancias únicas y ocultarlas de la etapa de generación de OTU (unidad taxonómica operativa). Se utilizó el algoritmo UPARSE para agrupar las secuencias y formar OTU. Las secuencias quiméricas generadas en la etapa de amplificación se retiraron mediante el uso del algoritmo de eliminación de quimeras UCHIME con la base de datos de referencia Chimeraslayer (descargada: 9 de septiembre de 2016). El algoritmo de alineación global USEARCH se utilizó entonces para mapear todas las lecturas, incluso las instancias únicas en las secuencias OTU restantes. Se utilizaron scripts internos para entonces agrupar las secuencias en OTU, según se clasificaron mediante el algoritmo de alineación global USEARCH. Se agruparon las secuencias individuales en OTU para dar información de la composición de los microbiomas (abundancia y diversidad).

Análisis de datos de alto nivel

Se generó la matriz de disimilitud de Bray-Curtis para cada par de muestras mediante el uso de la biblioteca Vegan en R 3.3.1. El conjunto de datos se visualizó mediante el uso de análisis de coordenadas principales con la matriz de disimilitud de Bray-Curtis.

Se utilizó una función R de *heatmap* interna para generar una visualización de mapa de calor con un agrupamiento jerárquico basado en la disimilitud de Bray-Curtis y el método de Ward.

Se generaron índices de diversidad de Shannon y Simpson mediante el uso de la biblioteca phyloseq en R.

Se utilizó la metodología DESeq2 para identificar variables taxonómicas que fueran significativas para comparaciones elegidas.

- 5 Se realizó un análisis MANOVA permutacional sobre la matriz de disimilitud mediante el uso de la función Adonis en R.

Resultados

- Se agruparon muestras de todos los momentos para ambos grupos (71 pacientes con IBS y 67 controles sanos que incluían tanto grupos tratados con Blautix como con placebo). Se
10 realizó el análisis mediante el uso de una medición de distancia generada en el conjunto de datos del microbiota completo. La Figura 1 indica que la microbiota de sujetos con IBS es significativamente diferente de la de sujetos sanos.

- El análisis de diversidad se llevó a cabo mediante el uso de la cantidad observada de taxones previstos (OTU), el índice de diversidad de Shannon y el índice de diversidad de
15 Simpson. Ambos grupos de tratamiento presentaron un aumento de la diversidad en el Día 16, lo cual fue significativo para las OTU observadas y presentaron una tendencia para Simpson (valor P sin procesar: $< 0,1$) (Figura 2). Este aumento de la diversidad no se observó en pacientes tratados con el placebo. Se observó una disminución significativa de la diversidad de la microbiota en el grupo con placebo de IBS sin tratamiento entre el final del
20 estudio y el Día 1.

- La Figura 3 indica que el tratamiento con Blautix aumentó la conductividad de red de la microbiota de determinados taxones asociados con la salud. En pacientes sanos se observó un aumento considerable en las conexiones entre microbios desde el Día 1 al Día 16 (después del tratamiento con Blautix), lo cual sugiere un aumento en la cooperación y la estructura de la
25 microbiota (Figura 3A). La conectividad se correlaciona con la diversidad y la estabilidad. Después del período de descanso, la estructura de red se volvió una red similar a la observada en el Día 1. Por lo tanto, el tratamiento con Blautix fue capaz de aumentar la interconectividad en pacientes sanos pero el efecto se perdió después del descanso. En
30 pacientes con IBS la red permaneció similar en lo que respecta a la conectividad entre el Día 1 y el Día 16, pero se observó un aumento de la conectividad al final del estudio, lo cual sugiere un aumento en la estructura de la microbiota después del período de descanso en pacientes

con IBS tratados con Blautix (Figura 3B). Por lo tanto, el efecto de Blautix sobre la conectividad del microbioma se retrasó en pacientes con IBS en comparación con pacientes sanos.

La inestabilidad/cambio en los perfiles de la microbiota se representaron mediante distancias de Bray Curtis entre momentos en el mismo sujeto. Bray-Curtis muestra disimilitud entre perfiles de abundancia de especie limitada entre 0-1 (0 = igual; 1 = no comparte ninguna especie). El tratamiento de pacientes con IBS con Blautix redujo la magnitud de los cambios en la microbiota durante el tratamiento (Figura 4A) y después del tratamiento (Figuras 4B-4C). Esto muestra que Blautix aumentó la estabilidad de la microbiota en los pacientes con IBS y que el cambio continúa después de la intervención. Este aumento de la estabilidad no se observó cuando se administró placebo a los pacientes con IBS (Figuras 4 A-C).

La Figura 5 indica que hubo un aumento significativo en la diversidad de la microbiota a nivel del género para los pacientes con IBS tratados con Blautix en el Día 16 en comparación con el Día 1. El análisis de diversidad se llevó a cabo mediante el uso del índice de diversidad de Shannon aplicado a nivel de género (valor p sin procesar: 0,04 en el Día 1 en comparación con el Día 16).

La Figura 6A y la Figura 6B muestran los cambios en las redes de exclusión mutua en pacientes sanos y con IBS después del tratamiento con Blautix. En individuos sanos, la red de exclusión mutua se vuelve más densa e interconectada en el Día 16, lo cual sugiera una mayor competencia e inhibición. Sin embargo, este efecto se perdió al final del estudio, dado que la estructura de red volvió al momento inicial durante el período de descanso (Figura 6A). En pacientes con IBS, el efecto de Blautix sobre la conductividad de exclusión mutua fue aumentar el diámetro de la red durante el período de tratamiento y el período de descanso. Este fue el efecto opuesto al observado en individuos sanos, donde la red se volvió más densa. Durante la fase de descanso para los pacientes con IBS, se observaron múltiples interacciones independientes que no se habían visto previamente. Múltiples interacciones independientes representan pares de taxones que interactúan de una manera que es independiente del resto de la red, es decir, no tienen ninguna interacción con el resto de la red.

La visualización de la microbiota muestra que, después del tratamiento con Blautix, hubo un aumento de la conectividad de la red para determinados taxones asociados con la salud

(Figura 7). Los taxones asociados con la salud incluyen el grupo IV de Clostridium, Bifidobacterium y Prevotella. Oscillibacter también es un género posiblemente asociado con la salud. Estos taxones asociados con la salud están implicados en la respuesta al tratamiento.

5 ***Ejemplo 2 - efecto protector en modelos de trastornos del neurodesarrollo***

Modelo de ratón BTBR

El modelo de ratón BTBR usa ratones endogámicos y modificados genéticamente que presentan un fenotipo autista potente. En esta cepa se han hallado déficits en conductas sociales, un aumento de las conductas repetitivas y un aumento de conductas relacionadas con la ansiedad [51]. Debido a este fenotipo conductual potente, el ratón BTBR es un modelo animal ideal para evaluar la eficacia de los nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de los comportamientos relacionados con el autismo. El alivio de dichos síntomas por medio de un producto bioterapéutico activo puede ser indicador de la eficacia del producto bioterapéutico en el tratamiento de otras enfermedades neurológicas o psiquiátricas.

15 **Ratones**

Se criaron BTBR macho en el laboratorio. Los animales fueron alojados en un cuarto con temperatura y humedad controlada en un ciclo oscuro de 12 horas (las luces están encendidas de 7:00-19:00 horas). Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con la directiva europea 2010/63/EEC, los requisitos de S.I. n.º 543 de 2012 y aprobados por el comité de ética de experimentación animal de la Universidad de Cork.

20 **Cepa**

Bacteria *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507 y también con el número de acceso DSM 14294.

El producto bioterapéutico se proporcionó en existencias de glicerol. Los productos bioterapéuticos activos se cultivaron en el centro en condiciones anaeróbicas.

25 **Administración de productos bioterapéuticos activos**

La dosificación con *Blautia hydrogenotrophica* comenzó cuando los ratones tenían 8 semanas de edad. Estos ratones se trataron una vez por día durante 3 semanas por medio de sonda oral.

30 **Cronograma de administración**

El vehículo para la administración oral es PBS. La administración oral diaria se produce

mediante sonda oral.

Recolección de heces

Se recogieron muestras fecales frescas de cada ratón individual antes y después de la administración de *Blautia hydrogenotrophica*. Al menos 20 mg de heces frescas se colocaron en un tubo de microcentrifugación, se colocaron inmediatamente en hielo y luego se almacenaron a -80°C.

Resultados

El efecto del tratamiento con Blautix sobre la microbiota entre momentos (D14, D32) se muestra en la Figura 8. La variación temporal significativa en los perfiles de la microbiota se observó (valor $p = 0,001$) entre los momentos del estudio antes del tratamiento (D14) y después del tratamiento (D32).

El análisis diferencial mediante el uso de DESeq2 proporcionó 25 taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos (valor p ajustado $< 0,05$) para el tratamiento con Blautix entre los momentos del estudio de autismo D14 y D32. Los taxones se enumeran en la

Tabla 1 a continuación.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
2440650	Género	Clostridium XIVa	19,706	3,008	6,9E-10
		Bacteroides			
307526	Especie	acidifaciens	11,275	0,912	5,0E-33
		Bacteroides			
39008	Especie	acidifaciens	10,501	1,345	1,0E-13
277773	Especie	Alistipes finegoldii	9,954	0,906	2,8E-26
1105465	Género	Barnesiella	9,255	0,923	2,8E-22
943687	Familia	Porphyromonadaceae	9,200	0,850	1,1E-25
		Barnesiella			
47662	Especie	intestinihominis	8,844	0,988	7,0E-18
181003	Género	Alistipes	8,370	2,069	4,2E-04

		Barnesiella			
1282905	Especie	intestinihominis	7,373	1,004	2,8E-12
		Barnesiella			
1370810	Especie	intestinihominis	6,633	1,986	0,006
		Bacteroides			
1203483	Especie	acidifaciens	6,599	1,584	2,7E-04
74179	Especie	Alistipes massiliensis	6,318	1,899	0,006
		Barnesiella			
1640334	Especie	intestinihominis	6,258	2,066	0,013
76239	Familia	Lachnospiraceae	6,202	1,229	4,6E-06
		Barnesiella			
308030	Especie	intestinihominis	6,196	1,451	1,8E-04
1156020	Familia	Erysipelotrichaceae	5,827	1,607	0,002
		Barnesiella			
712755	Especie	intestinihominis	5,614	1,749	0,008
11297	Familia	Porphyromonadaceae	5,450	1,021	1,0E-06
2218722	Género	Clostridium IV	3,983	1,017	0,001
		Clostridium			
594012	Especie	lactatifermentans	2,900	0,952	0,013
		Eubacterium			
453043	Especie	ventriosum	-3,675	1,260	0,018
		Barnesiella			
451019	Especie	intestinihominis	-4,055	1,540	0,041
		Akkermansia			
466087	Especie	muciniphila	-6,727	0,876	2,5E-13
2153421	Género	Blautia XIVa	-8,051	2,577	0,010
		Barnesiella			
866478	Especie	intestinihominis	-8,961	0,846	9,3E-25

Tabla 1. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D14 y D32 en el estudio de autismo. Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D32 cuando se compara con D14.

Resumen

En un modelo de ratón de autismo en el cual se administró Blautix a los animales, se observó una variación significativa en su microbioma, incluso un aumento neto sustancial en la diversidad bacteriana.

5 ***Ejemplo 3 - Efecto en modelos de ischemia cerebral***

Resumen

Se evaluó el efecto protector de *Blautia hydrogenotrophica* en modelos de ratón de ischemia cerebral. Con este fin, se evaluaron tres grupos de 5-17 ratones. Solo se incluyeron en el estudio animales con comportamiento normal. El primer día de dosificación fue el Día -14. Un grupo recibió bacterias liofilizadas diariamente desde el primer día de dosificación hasta la finalización. Los grupos de control recibieron ya sea vehículo o amortiguador de liofilización.

El Día 1, se anestesió a todos los ratones. Se creó una incisión de línea media en el lado ventral del cuello para exponer las arterias carótidas comunes derecha e izquierda. Entonces se indujo un modelo de ischemia-reperfusión (I/R) cerebral mediante oclusión bilateral de la arteria carótida común (BCCAO, por sus siglas en inglés) mediante el uso de broches vasculares durante 15 minutos. Al final de cada oclusión se quitaron los clips.

Cepa

Bacteria *Blautia hydrogenotrophica* depositada con el número de acceso DSM 10507 y también con el número de acceso DSM 14294.

20 ***Cronograma de administración***

Cantidad de animales	Tratamiento	Nivel de dosis (mg/kg)	Volúmenes de dosis (ml/kg o ml/animal)
12	PBS (control negativo)	n/c	10
17	Polvo liofilizado	7,8 mg en 100 µl	100 µl por animal
13	Bacterias liofilizadas	15,6 mg en 100µl (dosis de bacterias = 2×10^8)	100 µl por animal

Diseño del estudio

Días -14 a 14: Dosis diaria de control de PBS (amortiguador de liofilización), control de polvo liofilizado (vehículo) o bacterias liofilizadas (Blautix).

Día 1: Se indujo un modelo de isquemia-reperfusión I/R cerebral mediante cirugía.

5 Día 14: Se sacrificó la mitad de los ratones de cada grupo.

Día 14 a 28: Dosis diaria de control de PBS (amortiguador de liofilización), control polvo liofilizado (vehículo) o bacterias liofilizadas (Blautix) para los ratones restantes de cada grupo.

Día 28: Se sacrificaron los ratones restantes.

10 Se recogieron gránulos fecales en tres momentos: Día -14, Día 14 y Día 28. Cada toma se realizó en un ambiente estéril (completamente aséptico = limpiado entre animales), con cada ratón retirado de la jaula y colocado de forma separada en una nueva caja estéril para la recolección individual de gránulos. Se recogieron tantos gránulos como fue posible de modo de alcanzar un mínimo de 80 mg y preferentemente 100mg de material por ratón.

Resultados

15 No se detectaron diferencias significativas en los perfiles de microbiota entre los grupos con tratamiento con Blautix, vehículo o amortiguador de liofilización en D-14 (valor $p = 0,177$) antes de la administración de Blautix (véase la Figura 9A). Sin embargo, se observaron diferencias significativas en los perfiles de microbiota entre los diferentes grupos de tratamiento en el Día 14 (véase la Figura 9B) con un valor p observado de 0,011. Los
20 inventores evaluaron además la variación temporal en la microbiota del grupo tratado con Blautix y hallaron una diferencia significativa (véase la Figura 9C) con un valor p observado de 0,002.

25 El análisis diferencial mediante el uso de DESeq2 proporcionó taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos (valor p ajustado $< 0,05$) para el tratamiento con vehículo, amortiguador de liofilización y Blautix entre los momentos en el estudio de apoplejía, tal como se muestra en la Tabla 2, lo cual demuestra un impacto a mayor plazo sobre la diferente bacteriana impartido por Blautix. Los taxones para el tratamiento con Blautix se enumeran en la Tabla 3, Tabla 4 y Tabla 5.

	D-14->D14	D14->D28	D-14->D28
Vehículo	4	0	2

Amortiguador de liofilización	17	2	0
Blautix	7	14	12

Tabla 2. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos en el estudio de apoplejía.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
321825	Familia	Ruminococcaceae	1,647	0,470	0,027
		Alistipes			
74771	Especie	massiliensis	1,530	0,442	0,027
567799	Género	Alistipes	-1,215	0,308	0,008
77091	Género	Clostridium	-1,634	0,489	0,036
472737	Familia	Lachnospiraceae	-2,585	0,667	0,008
615246	Familia	Lachnospiraceae	-3,003	0,711	0,007
166882	Familia	Lachnospiraceae	-5,547	1,406	0,008

Tabla 3. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D-14 y D14 para el tratamiento con Blautix en el estudio de apoplejía. Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D14 cuando se compara con D-14.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
1101936	Orden	Clostridiales	3,275	0,709	0,001
218505	Especie	Roseburia faecis	2,568	0,630	0,002
948888	Género	Barnesiella	2,499	0,575	0,001
612631	Género	Clostridium XIVa	2,473	0,723	0,011

201398	Filo	Bacteroidetes	2,045	0,605	0,011
		Barnesiella			
1370810	Especie	intestinihominis	1,878	0,579	0,016
770554	Especie	Alistipes putredinis	1,868	0,626	0,033
558330	Género	Prevotella	1,795	0,453	0,002
943687	Familia	Porphyromonadaceae	1,586	0,546	0,039
		Barnesiella			
308030	Especie	intestinihominis	1,324	0,361	0,005
176124	Filo	Bacteroidetes	1,163	0,294	0,002
		Oscillospira			
565518	Especie	guilliermondii	-1,571	0,488	0,016
544582	Especie	Flavonifractor plautii	-1,599	0,569	0,050
		Mucispirillum			
25678	Especie	schaedleri	-2,751	0,640	0,001

Tabla 4. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D14 y D28 para el tratamiento con Blautix en el estudio de apoplejía. Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D28 cuando se compara con D14.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
688867	Género	Clostridium XIVa	8,296	1,136	3,8E-11
612631	Género	Clostridium XIVa	7,814	1,348	3,1E-07
560658	Familia	Lachnospiraceae	5,241	1,243	0,001
		Eubacterium			
929749	Especie	ruminantium	3,190	0,829	0,003
		Desulfovibrio			
518034	Especie	fairfieldensis	3,098	0,982	0,024
74771	Especie	Alistipes massiliensis	2,548	0,714	0,007
23310	Especie	Odoribacter laneus	1,621	0,475	0,011

117624	Orden	Clostridiales	-1,748	0,612	0,049
411272	Género	Clostridium XIVa	-2,923	1,019	0,049
		Bacteroides			
39008	Especie	acidifaciens	-2,953	0,816	0,007
331352	Género	Clostridium XIVa	-3,969	0,626	1,6E-08
77091	Género	Clostridium	-4,247	1,426	0,039

Tabla 5. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D-14 y D28 para el tratamiento con Blautix en el estudio de apoplejía. Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D28 cuando se compara con D-14. El análisis diferencial mediante el uso de DESeq2 proporcionó taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos (valor p ajustado < 0,05) para el tratamiento con Blautix en comparación con vehículo, así como el tratamiento con Blautix en comparación con amortiguador de liofilización para los momentos del estudio de apoplejía, tal como se muestra en la Tabla 6. Los taxones se enumeran en la Tabla 7, Tabla 8 y Tabla 9.

	D-14	D14	D28
Blautix en comparación con vehículo	0	10	0
Blautix en comparación con amortiguador de liofilización	2	13	0

Tabla 6. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos para el tratamiento con Blautix en el estudio de apoplejía.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
25678	Especie	Mucispirillum	2,604	0,688	0,014

		schaedleri			
3119687	Familia	Lachnospiraceae	2,445	0,642	0,014
321825	Familia	Ruminococcaceae	2,174	0,564	0,014
627	Género	Clostridium XIVa	1,915	0,601	0,043
		Barnesiella			
308030	Especie	intestinihominis	-1,324	0,419	0,043
		Barnesiella			
1370810	Especie	intestinihominis	-1,540	0,425	0,019
		Ruminococcus			
187271	Especie	flavefaciens	-3,475	1,065	0,042
277773	Especie	Alistipes finegoldii	-3,751	1,178	0,043
		Staphylococcus			
940566	Especie	lentus	-5,228	1,519	0,026
930972	Género	Staphylococcus	-5,418	1,536	0,023

Tabla 7. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos para el tratamiento con Blautix en comparación con vehículo en D14 en el estudio de apoplejía.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción		
			error estándar	valor ajustado	p
1161472	Familia	Lachnospiraceae	6,511	1,403	0,001
392940	Reino	Bacteria	-5,169	1,346	0,022

Tabla 8. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos para el tratamiento con Blautix en comparación con amortiguador de liofilización en D-14 en el estudio de apoplejía.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción		
			error estándar	valor ajustado	p
25678	Especie	Mucispirillum	2,704	0,753	0,012

		schaedleri			
1379349	Género	Clostridium XIVa	2,517	0,771	0,027
		Oscillibacter			
742656	Especie	valericigenes	1,738	0,459	0,009
558330	Género	Prevotella	-1,634	0,406	0,006
		Barnesiella			
1370810	Especie	intestinihominis	-1,780	0,390	0,001
		Barnesiella			
712755	Especie	intestinihominis	-1,827	0,464	0,006
		Barnesiella			
47662	Especie	intestinihominis	-2,109	0,606	0,014
		Barnesiella			
1640334	Especie	intestinihominis	-2,260	0,693	0,027
1105465	Género	Barnesiella	-2,306	0,627	0,010
161658	Familia	Lachnospiraceae	-2,565	0,816	0,037
277773	Especie	Alistipes finegoldii	-3,619	1,034	0,014
		Ruminococcus			
187271	Especie	flavefaciens	-3,924	1,057	0,010
459041	Especie	Lactobacillus johnsonii	-4,029	0,981	0,006

Tabla 9. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos para el tratamiento con Blautix en comparación con amortiguador de liofilización en D14 en el estudio de apoplejía.

Resumen

- 5 Blautix produce un aumento significativo en la diversidad de la microbiota durante el período del estudio en un modelo de ratón de apoplejía, cuando se compara con amortiguador de liofilización o control con vehículo.

Ejemplo 4 - efecto protector en modelos de afecciones neuroinflamatorias

- 10 La encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) es un modelo de ratón de inflamación del CNS que refleja muchos aspectos de la enfermedad humana EM y EAE es el modelo experimental más comúnmente utilizado para la EM humana. La EAE también se utiliza más generalmente como un modelo para trastornos autoinmunitarios específicos del CNS [52] y

para otras afecciones específicas, que incluyen la encefalomielitis aguda diseminada. La EAE se induce mediante la inmunización con péptidos de mielina y adyuvantes para provocar una respuesta inflamatoria e inmunitaria que corresponda estrechamente con los mecanismos que subyacen muchos trastornos inflamatorios y autoinmunitarios del CNS, y, en particular, EM.

5 Muchas terapias que muestran eficacia en EAE también han demostrado eficacia en el tratamiento de EM en pacientes humanos [52]. Resulta importante que EAE reproduce elementos fundamentales de EM, que incluyen inflamación, desmielinización, pérdida axonal y gliosis. Los efectos de la desmielinización se restringen principalmente a la médula espinal en EAE, con poca alteración del tallo cerebral y del cerebelo. En la EAE, los linfocitos T CD4+

10 son la población celular dominante que se encuentra en el CNS.

Metodología

Se utilizó *Blautia hydrogenotrophica* ("Blautix", cepa depositada con el número de acceso DSM 10507 y también con el número de acceso DSM 14294) como polvo liofilizado y reconstituido según fue necesario.

15 Se utilizaron 12 ratones C57BL/6J hembra adultos.

En el Día 0 y en el Día 7, se administró a los animales una emulsión que contenía MOG35-55 y adyuvante completo de Freund (CFA, por sus siglas en inglés) complementado con *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra mediante inyección subcutánea con anestesia gaseosa (isoflurano). En el Día 0, se realizaron dos inyecciones subcutáneas en los lados; una en cada cuadrante inferior de la espalda. En el Día 7, se realizaron dos inyecciones subcutáneas en los lados; una en cada cuadrante superior de la espalda.

En el Día 0 y en el Día 2, se administró a los animales toxina pertussis (PTx) en solución salina amortiguada con fosfato (PBS) mediante inyección intraperitoneal. En el Día 0, la administración de PTx se llevó a cabo después de las inyecciones con MOG.

25 Los tratamientos con Blautix o controles se administraron desde el Día -14 de acuerdo con el siguiente cronograma:

Día 0: MOG/CFA, una vez, SC

Día 0: PTx, una vez, IP

Día 2, PTx, una vez, IP

30 Día 7: MOG/CFA, una vez, SC

Los tratamientos se administraron dentro de los 15 minutos de su preparación. Blautix fue administrado a una dosis de 2×10^8 ; 100 μ l/ratón.

Desde el Día 0 hasta el final del experimento, los animales fueron puntuados de manera diaria con respecto a los signos clínicos de EAE, incluso paresia y parálisis de la cola y/o extremidades.

En el Día -14, Día -1 y Día 34, se recolectaron gránulos fecales de cada animal, se congelaron inmediatamente y se almacenaron a -80 °C.

Resultados

El efecto del tratamiento con Blautix sobre la microbiota entre momentos (D-14, D-1, D34) para el modelo de EM se muestra en la Figura 10. La variación temporal significativa en los perfiles de la microbiota se observó (valor $p = 0,001$) para los momentos del estudio.

El análisis diferencial mediante el uso de DESeq2 proporcionó taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos (valor p ajustado $< 0,05$) para el tratamiento con Blautix entre los momentos del estudio, tal como se muestra en la Tabla 10. Los taxones se enumeran en la Tabla 11, Tabla 12 y Tabla 13.

	D-14->D-1	D-1->D34	D-14->D34
EM (Blautix)	42	30	58

Tabla 10. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos en el estudio de EM.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
1105465	Género	Barnesiella	8,076	0,702	2,2E-28
48633	Género	Clostridium XIVa	7,304	0,825	7,0E-17
490405	Especie	Turicibacter sanguinis	6,824	0,778	1,0E-16
491106	Especie	Flavonifractor plautii	5,116	0,923	4,3E-07
43241	Género	Clostridium XIVa	5,041	0,739	2,2E-10
948888	Género	Barnesiella	4,649	0,605	4,3E-13
47662	Especie	Barnesiella	4,276	0,501	5,1E-16

		intestinihominis			
1288839	Familia	Lachnospiraceae	4,117	1,170	0,003
11297	Familia	Porphyromonadaceae	4,081	0,600	2,2E-10
198591	Familia	Lachnospiraceae	3,757	0,788	2,3E-05
49543	Familia	Lachnospiraceae	3,275	0,897	0,002
		Oscillospira			
1009304	Especie	guilliermondii	3,140	1,043	0,015
		Insolitispirillum			
930464	Especie	peregrinum	2,804	1,033	0,029
1793164	Género	Parasutterella	2,720	0,576	2,6E-05
1260915	Reino	Bacteria	2,678	0,804	0,006
36112	Especie	Clostridium leptum	2,584	0,887	0,018
181003	Género	Alistipes	2,581	0,555	3,3E-05
149837	Familia	Lachnospiraceae	2,434	0,678	0,002
1056232	Género	Clostridium XIVa	2,308	0,856	0,030
770554	Especie	Alistipes putredinis	2,223	0,556	0,001
1176501	Familia	Lachnospiraceae	2,079	0,758	0,028
33530	Especie	Acetatifactor muris	1,965	0,569	0,004
43033	Género	Alistipes	1,788	0,379	2,6E-05
576748	Familia	Ruminococcaceae	1,740	0,603	0,019
		Oscillospira			
50759	Especie	guilliermondii	1,570	0,409	0,001
		Pseudoflavonifractor			
592877	Especie	capillosus	1,512	0,418	0,002
		Barnesiella			
712755	Especie	intestinihominis	1,509	0,502	0,015
		Barnesiella			
375558	Especie	intestinihominis	1,505	0,554	0,029
307526	Especie	Bacteroides acidifaciens	1,499	0,492	0,014
74641	Especie	Bacteroides acidifaciens	1,418	0,532	0,032
943687	Familia	Porphyromonadaceae	1,162	0,397	0,018

791734	Género	Clostridium XIVa Anaerotruncus	-1,064	0,377	0,023
19031	Especie	colihominis	-1,391	0,516	0,030
74179	Especie	Alistipes massiliensis Anaeroplasma	-1,810	0,305	4,7E-08
211238	Especie	abactoclasticum	-2,662	0,859	0,012
76239	Familia	Lachnospiraceae	-2,721	0,668	4,2E-04
743544	Género	Clostridium XIVa	-3,014	0,672	7,0E-05
993522	Género	Clostridium XIVa	-3,394	0,708	2,2E-05
76325	Género	Lactobacillus	-3,621	0,575	5,2E-09
209309	Familia	Lachnospiraceae	-3,857	1,295	0,016
567799	Género	Alistipes	-5,435	0,634	4,3E-16
77091	Género	Clostridium	-6,877	1,048	1,0E-09

Tabla 11. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D-14 y D-1 en el estudio de EM Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D-1 cuando se compara con D-14.

OTU_ID	Nivel más bajo	Clasificación	log2 cambio de proporción	error estándar	valor p ajustado
1370810	Especie	Barnesiella intestinihominis Parasutterella	4,794	1,196	0,001
1684470	Especie	excrementihominis Eubacterium	4,434	1,167	0,002
1070245	Especie	plexicaudatum	3,870	0,961	0,001
518034	Especie	Desulfovibrio fairfieldensis	3,867	0,962	0,001
1482481	Especie	Clostridium disporicum	3,228	1,112	0,029
567799	Género	Alistipes	3,218	0,864	0,002
1404432	Especie	Bacteroides acidifaciens	2,978	0,835	0,004

1067514	Género	Barnesiella	2,967	0,921	0,011
76325	Género	Lactobacillus	2,893	0,683	0,001
307526	Especie	Bacteroides acidifaciens	2,218	0,351	1,8E-08
1288839	Familia	Lachnospiraceae	2,084	0,746	0,035
866478	Especie	Barnesiella intestinihominis	1,936	0,647	0,022
23133	Familia	Ruminococcaceae	1,840	0,544	0,007
472737	Familia	Lachnospiraceae	1,697	0,524	0,011
842401	Orden	Clostridiales	1,601	0,535	0,022
39008	Especie	Bacteroides acidifaciens	1,494	0,390	0,002
74179	Especie	Alistipes massiliensis	1,426	0,328	3,9E-04
277773	Especie	Alistipes finegoldii	1,323	0,461	0,029
76234	Familia	Lachnospiraceae	-1,183	0,333	0,004
948888	Género	Barnesiella	-1,453	0,520	0,035
150155	Familia	Lachnospiraceae	-1,609	0,421	0,002
783115	Familia	Desulfovibrionaceae	-2,262	0,608	0,002
773427	Especie	Anaerotruncus colihominis	-2,443	0,661	0,003
201157	Familia	Lachnospiraceae	-2,587	0,754	0,006
596894	Género	Clostridium XIVa	-2,616	0,909	0,029
43033	Género	Alistipes	-3,236	0,718	2,2E-04
1793164	Género	Parasutterella	-3,758	0,632	1,4E-07
49543	Familia	Lachnospiraceae	-4,849	0,920	5,5E-06
490405	Especie	Turicibacter sanguinis	-5,152	0,704	2,5E-11
48282	Familia	Lachnospiraceae	-5,460	0,666	4,7E-14

Tabla 12. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D-1 y D34 en el estudio de EM Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D34 cuando se compara con D-1.

OTU_ID	Nivel		log2 cambio de	error estándar	valor p ajustado
	más bajo	Clasificación			

			proporción		
1105465	Género	Barnesiella	7,221	0,754	2,1E-19
48633	Género	Clostridium XIVa	6,734	0,959	8,7E-11
1288839	Familia	Lachnospiraceae	5,820	0,811	3,5E-11
518034	Especie	Desulfovibrio fairfieldensis	5,459	0,999	8,3E-07
		Parasutterella			
1684470	Especie	excrementihominis	5,289	1,408	0,001
1482481	Especie	Clostridium disporicum	4,947	1,295	0,001
		Barnesiella			
1370810	Especie	intestinihominis	4,734	1,263	0,001
		Eubacterium			
1070245	Especie	plexicaudatum	4,620	0,794	1,3E-07
1067514	Género	Barnesiella	4,544	1,103	2,8E-04
1575843	Especie	Clostridium ruminantium	4,393	1,743	0,040
43241	Género	Clostridium XIVa	4,284	0,817	2,4E-06
		Barnesiella			
47662	Especie	intestinihominis	4,273	0,478	3,8E-17
		Lachnospiraceae incertae			
1728285	Género	sedis	4,204	1,221	0,003
11297	Familia	Porphyromonadaceae	3,921	0,577	3,4E-10
307526	Especie	Bacteroides acidifaciens	3,539	0,534	9,9E-10
198591	Familia	Lachnospiraceae	3,273	0,762	1,4E-04
236126	Especie	Oscillospira guilliermondii	3,175	1,086	0,015
		Insolitispirillum			
930464	Especie	peregrinum	3,152	0,848	0,001
948888	Género	Barnesiella	3,040	0,629	1,6E-05
491106	Especie	Flavonifractor plautii	3,039	1,170	0,034
563211	Familia	Lachnospiraceae	2,564	0,965	0,030
149837	Familia	Lachnospiraceae	2,562	0,890	0,016
770554	Especie	Alistipes putredinis	2,520	0,455	6,2E-07

1260915	Reino	Bacteria	2,505	0,677	0,001
36112	Especie	Clostridium leptum	2,483	0,916	0,026
1056232	Género	Clostridium XIVa	2,319	0,664	0,002
39008	Especie	Bacteroides acidifaciens	2,107	0,274	9,9E-13
23133	Familia	Ruminococcaceae	2,049	0,614	0,004
74641	Especie	Bacteroides acidifaciens	2,002	0,457	1,0E-04
		Barnesiella			
712755	Especie	intestinihominis	1,977	0,470	2,0E-04
277773	Especie	Alistipes finegoldii	1,881	0,388	1,6E-05
1404432	Especie	Bacteroides acidifaciens	1,805	0,563	0,006
1176501	Familia	Lachnospiraceae	1,654	0,630	0,032
544582	Especie	Flavonifractor plautii	1,418	0,540	0,032
76234	Familia	Lachnospiraceae	-0,991	0,389	0,038
80190	Familia	Lachnospiraceae	-1,113	0,348	0,006
182471	Orden	Clostridiales	-1,315	0,472	0,021
494032	Especie	Clostridium oroticum	-1,502	0,580	0,034
2367602	Orden	Clostridiales	-1,518	0,472	0,006
74771	Especie	Alistipes massiliensis	-1,617	0,408	0,001
172154	Género	Clostridium XIVa	-1,628	0,442	0,001
993522	Género	Clostridium XIVa	-1,799	0,594	0,011
791734	Género	Clostridium XIVa	-1,842	0,387	2,2E-05
150155	Familia	Lachnospiraceae	-1,859	0,532	0,002
743544	Género	Clostridium XIVa	-2,196	0,558	0,001
567799	Género	Alistipes	-2,378	0,513	3,9E-05
96345	Género	Clostridium XIVa	-2,528	0,667	0,001
		Anaerotruncus			
19031	Especie	colihominis	-2,575	0,610	1,9E-04
201157	Familia	Lachnospiraceae	-2,615	0,866	0,011
578360	Familia	Lachnospiraceae	-2,870	0,586	1,4E-05
76239	Familia	Lachnospiraceae	-3,325	0,631	2,3E-06
1165458	Familia	Lachnospiraceae	-3,346	0,754	8,1E-05

Anaerotruncus					
773427	Especie	colihominis	-3,475	0,776	7,0E-05
209309	Familia	Lachnospiraceae	-3,639	1,042	0,002
320120	Género	Clostridium XIVa	-3,670	0,811	5,9E-05
1628488	Especie	Vallitalea guaymasensis	-4,144	1,538	0,027
48282	Familia	Lachnospiraceae	-4,653	1,012	4,5E-05
77091	Género	Clostridium	-7,493	1,192	7,9E-09

Tabla 13. Taxones abundantes desde el punto de vista diferencial significativos entre los momentos D-14 y D34 en el estudio de EM. Un cambio de proporción positivo se interpreta como un aumento en D34 cuando se compara con D-14.

Resumen

- 5 Blautix produce un aumento significativo en la diversidad de la microbiota y da como resultado una variación temporal significativa durante el tratamiento en un modelo animal para esclerosis múltiple.

10 La invención se ha descrito anteriormente a modo de ejemplo únicamente y se entenderá que se pueden realizar modificaciones adicionales que caigan dentro del alcance de las reivindicaciones.