

VESÍCULAS EXTRACELULARES DE *PREVOTELLA***SOLICITUDES RELACIONADAS**

La presente solicitud reivindica el beneficio de
5 prioridad para las solicitudes de patente provisionales de
Estados Unidos que tienen los números de serie 62/556.020,
presentada el 8 de septiembre de 2017, 62/632.859,
presentada el 2 de febrero de 2018 y 62/668.556, presentada
10 el 8 de mayo de 2018, los contenidos de cada una de los
cuales se incorporan en el presente documento por
referencia en su totalidad.

SUMARIO

En determinados aspectos, en el presente documento se
proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden
15 vesículas extracelulares (VE) de *Prevotella* (es decir, VE
generadas por bacterias del género *Prevotella* o aisladas de
las mismas útiles para el tratamiento y/o prevención de
enfermedades (por ejemplo, cáncer, enfermedades
autoinmunitarias, enfermedad inflamatoria, enfermedad
20 metabólica), así como los métodos para preparar y/o
identificar dichas VE y los métodos para usar tales
composiciones farmacéuticas (por ejemplo, para el
tratamiento de cánceres, enfermedades autoinmunitarias,
enfermedades inflamatorias, enfermedades metabólicas, solo
25 o en combinación con otros agentes terapéuticos). En
algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas
comprenden tanto VE de *Prevotella* como bacterias *Prevotella*
completas (por ejemplo, bacterias vivas, bacterias muertas,
bacterias atenuadas). En determinadas realizaciones, en el
30 presente documento se proporcionan composiciones
farmacéuticas que comprenden bacterias *Prevotella* en
ausencia de VE de *Prevotella*. En algunas realizaciones, las

composiciones farmacéuticas comprenden VE de *Prevotella* en ausencia de bacterias *Prevotella*. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden VE de *Prevotella* y/o bacterias *Prevotella* de la especie *Prevotella albensis*,
5 *Prevotella amnii*, *Prevotella bergensis*, *Prevotella bivia*, *Prevotella brevis*, *Prevotella bryantii*, *Prevotella buccae*, *Prevotella buccalis*, *Prevotella copri*, *Prevotella dentalis*, *Prevotella denticola*, *Prevotella disiens*, *Prevotella histicola*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella maculosa*,
10 *Prevotella marshii*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella micans*, *Prevotella multiformis*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella oralis*, *Prevotella oris*, *Prevotella oulorum*, *Prevotella pallens*, *Prevotella salivae*, *Prevotella stercorea*, *Prevotella tanneriae*, *Prevotella timonensis*,
15 *Prevotella jejuni*, *Prevotella aurantiaca*, *Prevotella baroniae*, *Prevotella colorans*, *Prevotella corporis*, *Prevotella dentasini*, *Prevotella enoeca*, *Prevotella falsenii*, *Prevotella fusca*, *Prevotella heparinolytica*, *Prevotella loescheii*, *Prevotella multisaccharivorax*,
20 *Prevotella nanceiensis*, *Prevotella oryzae*, *Prevotella paludivivens*, *Prevotella pleuritidis*, *Prevotella ruminicola*, *Prevotella saccharolytica*, *Prevotella scopos*, *Prevotella shahii*, *Prevotella zoogloformans*, o *Prevotella veroralis*. En algunas realizaciones, en el presente
25 documento se proporcionan biorreactores que comprenden tales bacterias.

En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* es la cepa B 50329 de *Prevotella* (número de acceso en NRRL B 50329). En algunas realizaciones, la cepa de *Prevotella* es
30 una cepa que comprende al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%,

o al menos el 99% de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos el 99.5% de identidad de secuencia, al menos el 99.6% de identidad de secuencia, al menos el 99.7% de identidad de secuencia, al menos el 99.8% de identidad de secuencia, al menos el 99.9% de identidad de secuencia) con la secuencia de nucleótidos (por ejemplo, la secuencia genómica, la secuencia 16S, la secuencia CRISPR) de la cepa B 50329 de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* es una cepa de bacterias *Prevotella* que comprende una proteína enumerada en la Tabla 1 y/o un gen que codifica una proteína enumerada en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* es una cepa de bacterias *Prevotella* libre o sustancialmente libre de una proteína enumerada en la Tabla 2 y/o un gen que codifica una proteína enumerada en la Tabla 2.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una relación específica entre bacterias *Prevotella* y partículas de VE de *Prevotella*. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos 1 bacteria *Prevotella* por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60,

61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75,
76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90,
91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250,
300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850,
5 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 ,
 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 ,
 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 ,
 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 ,
 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 ,
10 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 ,
 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 ,
 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} ,
 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} ,
 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} VE de partículas de
15 *Prevotella*. En algunas realizaciones, la composición
farmacéutica comprende aproximadamente 1 bacteria
Prevotella por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7,
1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9,
3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1,
20 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3,
5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5,
6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7,
7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9,
9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12,
25 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27,
28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57,
58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72,
73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87,
30 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150,
200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750,
800, 850, 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 ,

7x10³, 8x10³, 9x10³, 1x10⁴, 2x10⁴, 3x10⁴, 4x10⁴, 5x10⁴, 6x10⁴,
7x10⁴, 8x10⁴, 9x10⁴, 1x10⁵, 2x10⁵, 3x10⁵, 4x10⁵, 5x10⁵, 6x10⁵,
7x10⁵, 8x10⁵, 9x10⁵, 1x10⁶, 2x10⁶, 3x10⁶, 4x10⁶, 5x10⁶, 6x10⁶,
7x10⁶, 8x10⁶, 9x10⁶, 1x10⁷, 2x10⁷, 3x10⁷, 4x10⁷, 5x10⁷, 6x10⁷,
5 7x10⁷, 8x10⁷, 9x10⁷, 1x10⁸, 2x10⁸, 3x10⁸, 4x10⁸, 5x10⁸, 6x10⁸,
7x10⁸, 8x10⁸, 9x10⁸, 1x10⁹, 2x10⁹, 3x10⁹, 4x10⁹, 5x10⁹, 6x10⁹,
7x10⁹, 8x10⁹, 9x10⁹, 1x10¹⁰, 2x10¹⁰, 3x10¹⁰, 4x10¹⁰, 5x10¹⁰,
6x10¹⁰, 7x10¹⁰, 8x10¹⁰, 9x10¹⁰, 1x10¹¹, 2x10¹¹, 3x10¹¹, 4x10¹¹,
5x10¹¹, 6x10¹¹, 7x10¹¹, 8x10¹¹, 9x10¹¹, y/o 1x10¹² VE de
10 partículas de *Prevotella*. En algunas realizaciones, la
composición farmacéutica comprende no más de 1 bacteria
Prevotella por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7,
1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9,
3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1,
15 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3,
5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5,
6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7,
7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9,
9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12,
20 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27,
28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57,
58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72,
73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87,
25 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150,
200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750,
800, 850, 900, 950, 1x10³, 2x10³, 3x10³, 4x10³, 5x10³, 6x10³,
7x10³, 8x10³, 9x10³, 1x10⁴, 2x10⁴, 3x10⁴, 4x10⁴, 5x10⁴, 6x10⁴,
7x10⁴, 8x10⁴, 9x10⁴, 1x10⁵, 2x10⁵, 3x10⁵, 4x10⁵, 5x10⁵, 6x10⁵,
30 7x10⁵, 8x10⁵, 9x10⁵, 1x10⁶, 2x10⁶, 3x10⁶, 4x10⁶, 5x10⁶, 6x10⁶,
7x10⁶, 8x10⁶, 9x10⁶, 1x10⁷, 2x10⁷, 3x10⁷, 4x10⁷, 5x10⁷, 6x10⁷,
7x10⁷, 8x10⁷, 9x10⁷, 1x10⁸, 2x10⁸, 3x10⁸, 4x10⁸, 5x10⁸, 6x10⁸,

7x10⁸, 8x10⁸, 9x10⁸, 1x10⁹, 2x10⁹, 3x10⁹, 4x10⁹, 5x10⁹, 6x10⁹,
7x10⁹, 8x10⁹, 9x10⁹, 1x10¹⁰, 2x10¹⁰, 3x10¹⁰, 4x10¹⁰, 5x10¹⁰,
6x10¹⁰, 7x10¹⁰, 8x10¹⁰, 9x10¹⁰, 1x10¹¹, 2x10¹¹, 3x10¹¹, 4x10¹¹,
5x10¹¹, 6x10¹¹, 7x10¹¹, 8x10¹¹, 9x10¹¹, y/o 1x10¹² VE de
5 partículas de *Prevotella*. En algunas realizaciones, la
composición farmacéutica comprende al menos 1 partícula de
VE d *Prevotella* por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6,
1.7, 1.8. 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8,
2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4,
10 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2,
5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4,
6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6,
7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8,
8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10,
15 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25,
26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40,
41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55,
56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70,
71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85,
20 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99,
100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650,
700, 750, 800, 850, 900, 950, 1x10³, 2x10³, 3x10³, 4x10³,
5x10³, 6x10³, 7x10³, 8x10³, 9x10³, 1x10⁴, 2x10⁴, 3x10⁴, 4x10⁴,
5x10⁴, 6x10⁴, 7x10⁴, 8x10⁴, 9x10⁴, 1x10⁵, 2x10⁵, 3x10⁵, 4x10⁵,
25 5x10⁵, 6x10⁵, 7x10⁵, 8x10⁵, 9x10⁵, 1x10⁶, 2x10⁶, 3x10⁶, 4x10⁶,
5x10⁶, 6x10⁶, 7x10⁶, 8x10⁶, 9x10⁶, 1x10⁷, 2x10⁷, 3x10⁷, 4x10⁷,
5x10⁷, 6x10⁷, 7x10⁷, 8x10⁷, 9x10⁷, 1x10⁸, 2x10⁸, 3x10⁸, 4x10⁸,
5x10⁸, 6x10⁸, 7x10⁸, 8x10⁸, 9x10⁸, 1x10⁹, 2x10⁹, 3x10⁹, 4x10⁹,
5x10⁹, 6x10⁹, 7x10⁹, 8x10⁹, 9x10⁹, 1x10¹⁰, 2x10¹⁰, 3x10¹⁰,
30 4x10¹⁰, 5x10¹⁰, 6x10¹⁰, 7x10¹⁰, 8x10¹⁰, 9x10¹⁰, 1x10¹¹, 2x10¹¹,
3x10¹¹, 4x10¹¹, 5x10¹¹, 6x10¹¹, 7x10¹¹, 8x10¹¹, 9x10¹¹, y/o
1x10¹² bacterias *Prevotella*. En algunas realizaciones, la

composición farmacéutica comprende aproximadamente 1
partícula de VE de *Prevotella* por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3,
1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5,
2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7,
5 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9,
5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1,
6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3,
7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5,
8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7,
10 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21,
22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36,
37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51,
52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66,
67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81,
15 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96,
97, 98, 99, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500,
550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 ,
 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 , 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 ,
 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 ,
20 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 ,
 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 ,
 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 ,
 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 ,
 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} ,
25 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} ,
 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} ,
 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} bacterias *Prevotella*. En algunas
realizaciones, la composición farmacéutica comprende no más
de 1 partícula VE de *Prevotella* por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3,
30 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5,
2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7,
3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9,

5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 , 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} bacterias *Prevotella*.

En determinados aspectos, las VE de *Prevotella* son de una bacteria *Prevotella* diseñada que se ha modificado para mejorar ciertas propiedades deseables. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente se modifican para aumentar la producción de VE de *Prevotella*. En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* diseñadas se modifican para producir VE de *Prevotella* con administración oral mejorada (por ejemplo, mejorando la resistencia a los ácidos, la mucoadherencia y/o la penetración y/o la resistencia a los ácidos

biliares, la resistencia a péptidos antimicrobianos y/o la neutralización de anticuerpos), para dirigirlas a los tipos de células deseadas (por ejemplo, células M, células caliciformes, enterocitos, células dendríticas, macrófagos) para mejorar la biodisponibilidad sistémicamente o en un nicho apropiado (por ejemplo, ganglios linfáticos mesentéricos, placas de Peyer, lámina propia, ganglios linfáticos que drenan tumores y/o sangre), para mejorar el efecto inmunomodulador y/o terapéutico de las VE de *Prevotella* que producen (por ejemplo, solas o en combinación con otro agente terapéutico), para mejorar la activación inmune por las VE de *Prevotella* que producen y/o para mejorar la fabricación de bacterias *Prevotella* y/o de VE de *Prevotella* (por ejemplo, mayor estabilidad, tolerancia mejorada a la congelación-descongelación, tiempos de generación más cortos). En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para fabricar tales VE de *Prevotella* y bacterias *Prevotella*. En algunas realizaciones, administrar las VE de *Prevotella* desveladas en el presente documento es más eficaz en el tratamiento de un sujeto (por ejemplo, un sujeto con cáncer, un trastorno inmune y/o una enfermedad metabólica) que la administración de bacterias *Prevotella* enteras de la misma cepa que las bacterias de las que se derivaron las VE de *Prevotella*.

En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene cáncer, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica descrita en el presente documento. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene un trastorno inmune (por ejemplo, una enfermedad

autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una alergia), que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica descrita en el presente documento. En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad metabólica, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica descrita en el presente documento.

En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un antibiótico. En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto una o más terapias contra el cáncer (por ejemplo, la extirpación quirúrgica de un tumor, la administración de un agente quimioterapéutico, la administración de radioterapia y/o la administración de una inmunoterapia contra el cáncer, tal como un inhibidor del punto de control inmunológico, un anticuerpo específico contra el cáncer, una vacuna contra el cáncer, una célula presentadora de antígeno cebada, una célula T específica para cáncer, una célula T del receptor del antígeno quimérico (CAR) específico de cáncer, una proteína de activación inmune y/o un adyuvante). En algunas realizaciones, el método comprende además la administración de otra bacteria terapéutica y/o EV. En algunas realizaciones, el método comprende además la administración de un inmunosupresor y/o un agente antiinflamatorio. En algunas realizaciones, el método comprende además la administración de un agente terapéutico para enfermedades metabólicas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **figura 1A** muestra la eficacia de la cepa A de *Prevotella histicola* por vía oral o intraperitoneal A y las VE derivadas de la cepa A de *Prevotella histicola* en la

reducción de la inflamación específica de la oreja (grosor de la oreja) 24 horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basada en KLH. La eficacia se observó tanto los
5 grupos de administración tanto oral como i.p.

La **figura 1B** muestra la eficacia de la cepa A de *Prevotella histicola* por vía oral o intraperitoneal A y las VE derivadas de la cepa A de *Prevotella histicola* en la reducción de la inflamación específica de la oreja (grosor
10 de la oreja) 48 horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basada en KLH.

La **figura 1C** muestra la eficacia de las VE derivadas de la cepa A de *Prevotella histicola* por vía intraperitoneal a la dosis indicada (10 µg, 3 µg, 1 µg, y 0.1 µg) en la
15 reducción de la inflamación específica de la oreja (grosor de la oreja) 48 horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basada en KLH.

La **figura 1D** muestra la capacidad de VE derivadas de la cepa A de *Prevotella histicola* administradas por vía intraperitoneal en la reducción de la expresión de IL-1β 48
20 horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH.

La **figura 1E** muestra la capacidad de VE derivadas de la cepa A de *Prevotella histicola* administradas por vía intraperitoneal en el incremento de la acumulación de Tregs en los ganglios linfáticos cervicales 48 horas después de
25 la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH.
30

La **figura 2** muestra que la cepa B-50329 de *P. histicola* era eficaz en la reducción de la puntuación de la

actividad de NASH (NAS) en ratones que recibieron una dieta deficiente en colina metionina (MCD), que induce los síntomas de NASH.

La **figura 3A** muestra que la cepa B-50329 de *P. histicola* redujo la esteatosis en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

La **figura 3B** y la **figura 3C** muestran que la cepa B-50329 de *P. histicola* redujo la inflamación en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

La **figura 3D** muestra que la cepa B-50329 de *P. histicola* redujo la dilatación en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

La **Figura 4** muestra que la cepa B-50329 de *P. histicola* redujo el colesterol total hepático en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

La **figura 5A** y la **figuras 5B** muestran que la cepa B-50329 de *P. histicola* redujo la puntuación de fibrosis en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

La **figura 6A** muestra la eficacia de la administración de la cepa A de *Prevotella histicola*, *P. melanogenica*, las VE derivadas de la cepa A de *P. histicola*, las VE de la cepa A de *P. melanogenica* en la reducción de la inflamación de la oreja específica del antígeno (grosor de la oreja) 24 horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH. Las VE derivadas de la cepa A de *P. melanogenica* son más eficaces que *P. melanogenica*.

La **figura 6B** muestra la eficacia de la administración de la cepa A de *Prevotella histicola*, *P. melanogenica*, las VE derivadas de la cepa A de *P. histicola*, las VE de la cepa A de *P. melanogenica* en la reducción de la inflamación de la oreja específica del antígeno (grosor de la oreja) 48

horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH. Las VE derivadas de la cepa A de *P. melanogenica* son más eficaces que *P. melanogenica*.

5 La **Figura 7A** muestra el efecto de la cepa B-50329 de *P. histicola* sobre los ácidos grasos libres hepáticos en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

 La **Figura 7B** muestra el efecto de la cepa B-50329 de *P. histicola* sobre el colesterol total hepático en ratones
10 que fueron alimentados con una dieta de MCD.

 La **Figura 7C** muestra el efecto de la cepa B-50329 de *P. histicola* sobre los triglicéridos hepáticos en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD.

 La **Figura 7D** muestra el efecto de *P. histicola* y *P.*
15 *melanogenica* sobre alanina aminotransferasa en ratones que fueron alimentados con una dieta MCD.

 La **Figura 7E** muestra el efecto de *P. histicola* y *P. melanogenica* sobre la aspartato aminotransferasa en ratones que fueron alimentados con una dieta MCD.

20 La **figura 8A** muestra que *P. histicola* es eficaz en la reducción de la puntuación de actividad de NASH (NAS) en ratones que reciben una dieta deficiente en colina metionina (MCD), que induce los síntomas de NASH.

 La **figura 8B** muestra que la cepa B de *Prevotella*
25 *histicola*, la cepa A de *P. melanogenica*, la cepa A de *P. histicola*, la cepa B de *P. histicola* en combinación con OCD en la reducción de la puntuación de actividad NASH (NAS) en ratones que reciben una dieta deficiente en colina metionina (MCD), que induce los síntomas de NASH.

30 La **figura 9** muestra que el polvo de *P. histicola* es eficaz en un modelo de EAE en comparación con los tratamientos de control.

DESCRIPCIÓN DETALLADADefiniciones

"Adyuvante" o "terapia adyuvante" se refiere en general a un agente que afecta a una respuesta inmunológica o fisiológica en un paciente o sujeto. Por ejemplo, un adyuvante puede aumentar la presencia de un antígeno a lo largo del tiempo o en un área de interés como un tumor, ayudar a absorber un antígeno celular presentador de antígeno, activar macrófagos y linfocitos y apoyar la producción de citocinas. Cambiando una respuesta inmunitaria, un adyuvante podría permitir una dosis más pequeña de un agente de interacción inmune para aumentar la efectividad o la seguridad de una dosis en particular del agente de interacción inmune. Por ejemplo, un adyuvante puede evitar el agotamiento de las células T y, por lo tanto, aumentar la efectividad o la seguridad de un agente de interacción inmune concreto.

"Administración" se refiere ampliamente a una vía de administración de una composición a un sujeto. Los ejemplos de vías de administración incluyen administración oral, administración rectal, administración tópica, inhalación (nasal) o inyección. La administración por inyección incluye la administración intravenosa (IV), intramuscular (IM), intratumoral (IT) y subcutánea (SC). Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse en cualquier forma por cualquier vía efectiva, incluyendo, pero sin limitación, administración intratumoral, oral, parenteral, enteral, intravenosa, intraperitoneal, tópica, transdérmica (por ejemplo, usando cualquier parche estándar), intradérmica, oftálmica, (intra)nasal, local, no oral, tal como aerosol, inhalación, subcutánea, intramuscular, bucal, sublingual,

(trans)rectal, vaginal, intraarterial e intratecal, transmucosal (por ejemplo, sublingual, lingual, (trans)bucal, (trans)uretral, vaginal (por ejemplo, transvaginal y perivaginal), implante, intravesical, 5 intrapulmonar, intraduodenal, intragástrica e intrabronquial. En realizaciones preferidas, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se administran por vía oral, rectal, intratumoral, tópica, intravesical, mediante inyección en 10 el interior o adyacente a un ganglio linfático drenante, por vía intravenosa, por inhalación o aerosol, o por vía subcutánea.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" puede hacer referencia tanto a un anticuerpo 15 intacto como a un fragmento de unión a antígeno del mismo. Los anticuerpos intactos son glicoproteínas que incluyen al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por puentes disulfuro. Cada cadena pesada incluye una región variable de cadena pesada (abreviada en 20 el presente documento como V_H) y una región constante de cadena pesada. Cada cadena ligera incluye una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como V_L) y una región constante de cadena ligera. Las regiones V_H y V_L se pueden subdividir en regiones de 25 hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente 30 orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, documento FR4. Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras contienen un dominio de unión que interacciona con un

antígeno. El término "anticuerpo" incluye, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), anticuerpos monocatenarios y fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno.

Los términos "fragmento de unión a antígeno" y "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse a un antígeno. Los ejemplos de fragmentos de unión abarcados dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, Fv unido por disulfuro, Fd, diacuerpos, anticuerpos monocatenarios, NANOBODIES®, CDRH3 aislada, y otros fragmentos de anticuerpo que retienen al menos una porción de la región variable de un anticuerpo intacto. Estos fragmentos de anticuerpo pueden obtenerse usando técnicas recombinantes y/o enzimáticas convencionales y pueden cribarse para determinar la unión al antígeno de la misma manera que los anticuerpos intactos.

"Cáncer" en general se refiere a un crecimiento anormal descontrolado de las propias células del huésped que conduce a la invasión del tejido circundante y, potencialmente, del tejido distal al sitio inicial de crecimiento celular anormal en el huésped. Las clases principales incluyen carcinomas que son cánceres del tejido epitelial (por ejemplo, células de piel escamosas); sarcomas que son cánceres del tejido conjuntivo (por ejemplo, hueso, cartílago, grasa, músculo, vasos sanguíneos, etc.); leucemias que son cánceres del tejido

formador de sangre (por ejemplo, tejido de médula ósea); linfomas y mielomas que son cánceres de células inmunes; y cánceres del sistema nervioso central, que incluyen cánceres del cerebro y del tejido espinal. "Cáncer(es)"

5 "neoplasia(s)" y "tumor(es)" se usan en el presente documento de forma intercambiable. Como se usa en el presente documento, "cáncer" se refiere a todos los tipos de cáncer o neoplasias o tumores malignos, incluidas las leucemias, carcinomas y sarcomas, ya sean nuevos o

10 recurrentes. Los ejemplos específicos de cánceres son: carcinomas, sarcomas, mielomas, leucemias, linfomas y tumores de tipo mixto. Los ejemplos no limitantes de cánceres son cánceres del cerebro nuevos o recurrentes, melanoma, de vejiga urinaria, de mama, de cuello uterino,

15 de colon, de cabeza y cuello, de riñón, de pulmón, cáncer pulmonar no microcítico, mesotelioma, de ovario, de próstata, sarcoma, de estómago, de útero y meduloblastoma.

"Aumento celular" se refiere ampliamente a la afluencia de células o a la expansión de células en un

20 entorno que no está sustancialmente presente en el entorno antes de la administración de una composición y no está presente en la composición misma. Las células que aumentan el medio ambiente incluyen células inmunitarias, células estromales, células bacterianas y fúngicas. Los ambientes

25 de particular interés son los microambientes donde residen o localizan las células cancerosas. En algunos casos, el microambiente es un microambiente tumoral o un ganglio linfático que drena tumores. En otros casos, el microambiente es un sitio de tejido precanceroso o el sitio

30 de administración local de una composición o un sitio donde la composición se acumulará después de la administración remota.

"Clado" se refiere a las OTU o miembros de un árbol filogenético que están aguas abajo de un ganglio estadísticamente válido en un árbol filogenético. El clado comprende un conjunto de hojas terminales en el árbol filogenético que es una unidad evolutiva monofilética distinta y que comparten una cierta similitud de secuencia. "Unidades taxonómicas operacionales", "OTU" (o en plural, "OTUs"), se refiere a una hoja terminal en un árbol filogenético y se define por una secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, el genoma completo o una secuencia genética específica y todas las secuencias que comparten identidad de secuencia con esta secuencia de ácido nucleico a nivel de especie. En algunas realizaciones, la secuencia genética específica puede ser la secuencia 16S o una porción de la secuencia 16S. En otras realizaciones, los genomas completos de dos entidades se secuencian y se comparan. En otra realización, determinadas regiones, tales como marcadores de secuencia multilocus (MLST), genes específicos o conjuntos de genes pueden compararse genéticamente. En realizaciones 16S, las OTU que comparten un promedio del 97 % de identidad de nucleótidos en toda la 16S o en alguna región variable de la 16S se consideran la misma OTU (véase, por ejemplo, Claesson M J, Wang Q, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, Cole J R, Ros R P y O'Toole P W. 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res* 38: e200. Konstantinidis K T, Ramette A, y Tiedje J M. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940.). En realizaciones que implican el genoma completo, MLST, genes específicos o conjuntos de genes OTU que

comparten un promedio del 95% de identidad de nucleótidos se consideran la misma OTU (véase, por ejemplo, Achtman M y Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 431-440.

5 Konstantinidis K T, Ramette A, y Tiedje J M. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940.). Las OTU se definen con frecuencia comparando secuencias entre organismos. En general, las secuencias con menos del 95 %

10 de identidad de secuencia no se consideran parte de la misma OTU. Las OTU también se pueden caracterizar por cualquier combinación de marcadores de nucleótidos o genes, en particular, genes altamente conservados (por ejemplo, genes "constitutivos") o una combinación de los mismos. Tal

15 caracterización emplea, por ejemplo, datos de WGS o una secuencia de genoma completo.

Una "combinación" de VE de dos o más cepas microbianas incluye la coexistencia física de las dos VE, en el mismo material o producto o en productos físicamente conectados,

20 así como también la coadministración o colocación temporal de las VE de las dos cepas.

El término "disminución" o "depleción" significa un cambio, tal que la diferencia es, dependiendo de las circunstancias, al menos el 10 %, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%,

25 70%, 80%, 90%, 1/100, 1/1.000, 1/10.000, 1/100.000, 1/1.000.000 o indetectable después del tratamiento en comparación con un estado previo al tratamiento.

Como se usa en el presente documento, el término "disbiosis" se refiere a un estado en el cual la sinergia

30 entre los microbios y el tumor se rompe de modo que los microbios ya no soportan la nucleación, el mantenimiento, la progresión o la diseminación o metástasis de un tumor.

El término "epítopo" significa un determinante de proteína capaz de unirse específicamente a un anticuerpo o receptor de célula T. Los epítomos generalmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar. Ciertos epítomos se pueden definir mediante una secuencia de aminoácidos concreta a la que un anticuerpo es capaz de unirse.

Como se usa en el presente documento, "Bacterias modificadas genéticamente" son todas las bacterias que han sido alteradas genéticamente desde su estado natural por intervención humana y la progenie de dichas bacterias. Las bacterias modificadas genéticamente incluyen, por ejemplo, los productos de modificación genética dirigida, los productos de cribados por mutagénesis aleatoria y los productos de la evolución dirigida.

El término "gen" se usa ampliamente para hacer referencia a cualquier ácido nucleico asociado con una función biológica. El término "gen" se aplica a una secuencia genómica específica, así como a un ADNc o un ARNm codificado por esa secuencia genómica.

La "identidad" entre las secuencias de ácido nucleico de dos moléculas de ácido nucleico se puede determinar como un porcentaje de identidad utilizando algoritmos informáticos conocidos, tal como el programa "FASTA", usando por ejemplo, los parámetros predeterminados como en Pearson et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (otros programas incluyen el paquete informático GCG (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research 12(I):387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA Atschul, S. F., et al., J Molec Biol 215: 403 (1990); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994 y Carillo

et al. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073). Por ejemplo, la función BLAST de la base de datos de información del Centro Nacional de Biotecnología se puede usar para determinar la identidad. Otros programas disponibles comercial o
5 públicamente incluyen, el programa DNASTar "MegAlign" (Madison, Wis.) y el programa "Gap" de la Universidad de Wisconsin Genetics Computer Group (UWG) (Madison Wis.)).

Como se usa en el presente documento, el término "trastorno inmune" se refiere a cualquier enfermedad,
10 trastorno o síntoma de enfermedad causado por una actividad del sistema inmunológico, incluyendo enfermedades autoinmunitarias, enfermedades inflamatorias y alergias. Los trastornos inmunológicos incluyen, pero sin limitación, enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, lupus,
15 esclerodermia, anemia hemolítica, vasculitis, diabetes de tipo uno, enfermedad de Grave, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, síndrome de Goodpasture, anemia perniciosa y/o miopatía), enfermedades inflamatorias (por ejemplo, acné común, asma, enfermedad celíaca, prostatitis
20 crónica, glomerulonefritis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad inflamatoria pélvica, lesión por reperfusión, artritis reumatoide, sarcoidosis, rechazo de trasplante, vasculitis y/o cistitis intersticial) y/o una alergia (por ejemplo, alergias alimenticias, alergias a
25 medicamentos y/o alergias ambientales).

"Inmunoterapia" es un tratamiento que usa el sistema inmunológico de un sujeto para tratar una enfermedad (por ejemplo, enfermedad inmunitaria, enfermedad inflamatoria, enfermedad metabólica, cáncer) e incluye, por ejemplo,
30 inhibidores del punto de control, vacunas contra el cáncer, citocinas, terapia celular, células CAR-T y terapia de células dendríticas.

El término "aumento" significa un cambio, tal que la diferencia es, dependiendo de las circunstancias, al menos el 10 %, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 2 veces, 4 veces, 10 veces, 100 veces, 10^3 veces, 10^4 veces, 10^5 veces, 10^6 veces, y/o 10^7 veces mayor después del tratamiento en comparación con un estado previo al tratamiento. Las propiedades que pueden aumentar incluyen células inmunitarias, células bacterianas, células estromales, células supresoras derivadas mieloides, fibroblastos, metabolitos y citocinas.

Los "agonistas inmunes innatos" o "inmunoadyuvantes" son moléculas pequeñas, proteínas u otros agentes que están dirigidos específicamente a los receptores inmunes innatos, incluidos los receptores de tipo Toll (TLR), receptores NOD, RLR, receptores de lectina de tipo C, componentes de la vía STING-cGAS, complejos inflammasoma. Por ejemplo, El LPS es un agonista de TLR-4 derivado o sintetizado en bacterias y puede usarse el aluminio como un adyuvante inmunoestimulante. Los inmunoadyuvantes son una clase específica de terapia coadyuvante o adyuvante más amplia. Los ejemplos de agonistas de STING incluyen, pero sin limitación, 2'3'-cGAMP, 3'3'-cGAMP, c-di-AMP, c-di-GMP, 2'2'-cGAMP y 2'3'-cGAM (PS) 2 (Rp/Sp) (isómeros Rp, Sp del análogo de bis-fosforotioato de 2'3'-cGAMP). Los ejemplos de agonistas de TLR incluyen, pero sin limitación, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 y TLR11. Los ejemplos de agonistas de NOD incluyen, pero sin limitación, N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutamina (muramildipéptido (MDP)), ácido gamma-D-glutamyl-meso-diaminopimélico (iE-DAP) y desmuramilpéptidos (DMP).

El "espaciador transcrito interno" o "ITS" es un fragmento de ARN no funcional localizado entre ARN

ribosómicos estructurales (rARN) en un transcrito precursor común usado a menudo para la identificación de especies eucariotas en hongos particulares. El ARNr de los hongos que forma el núcleo del ribosoma se transcribe como un gen
5 de señal y consiste en las regiones 8S, 5.8S y 28S con ITS4 y 5 entre las regiones 8S y 5.8S y 5.8S y 28S, respectivamente. Estos dos segmentos intercistronicos entre las regiones 18S y 5.8S y 5.8S y 28S se eliminan mediante corte y empalme y contienen una variación significativa
10 entre especies para fines de códigos de barras como se ha descrito anteriormente (Schoch et al Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. PNAS 109:6241-6246. 2012). El rADNA 18S se usa tradicionalmente para la reconstrucción
15 filogenética, sin embargo, el ITS puede cumplir esta función ya que generalmente está muy conservado pero contiene regiones hipervariables que albergan suficiente diversidad de nucleótidos para diferenciar géneros y especies de la mayoría de los hongos.

20 El término "aislado" o "enriquecido" abarca un microbio, VE u otra entidad o sustancia que se ha separado (1) separada de al menos algunos de los componentes con los que estaba asociada cuando se produjo inicialmente (ya sea en la naturaleza o en un entorno experimental), y/o (2)
25 producida, preparada, purificada y/o fabricada por la mano del hombre. Los microbios aislados se pueden separar de al menos aproximadamente el 10%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%,
30 aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90%, o más de los otros componentes con los que estaban asociados inicialmente. En algunas

realizaciones, los microbios aislados tienen más de aproximadamente el 80%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%, aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%,
5 aproximadamente el 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98%, aproximadamente el 99%, o más de aproximadamente el 99% de pureza. Como se usa en el presente documento, una sustancia es "pura" si está
10 sustancialmente libre de otros componentes. Los términos "purificar" "que purifica" y "purificado" se refieren a un microbio u otro material que se ha separado de al menos algunos de los componentes con los que se asoció cuando se produjo o se produjo inicialmente (por ejemplo, ya sea en
15 la naturaleza o en un entorno experimental), o durante cualquier tiempo después de su producción inicial. Un microbio o una población microbiana puede considerarse purificada si se aísla en o después de la producción, tal como de un material o ambiente que contiene el microbio o
20 la población microbiana, y un microbio o población microbiana purificado puede contener otros materiales hasta aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%,
25 aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90 %, o superior a aproximadamente el 90 % y todavía se considera "aislado". En algunas realizaciones, los microbios o la población microbiana purificados tienen más de aproximadamente el 80 %,
30 aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%, aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%,

aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%,
aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98%,
aproximadamente el 99%, o más de aproximadamente el 99% de
pureza. En el caso de las composiciones microbianas
5 proporcionadas en el presente documento, el uno o más tipos
de microbios presentes en la composición pueden purificarse
independientemente de uno o más de otros microbios
producidos y/o presentes en el material o entorno que
contiene el tipo microbiano. Las composiciones microbianas
10 y los componentes microbianos de las mismas generalmente se
purifican a partir de productos de hábitat residuales.

"Metabolito", como se usa en el presente documento, se
refiere a cualquiera y todos los compuestos moleculares,
composiciones, moléculas, iones, cofactores, catalizadores
15 o nutrientes utilizados como sustratos en cualquier
reacción metabólica celular o microbiana o como compuestos
de productos, composiciones, moléculas, iones, cofactores,
catalizadores o nutrientes de cualquier reacción metabólica
celular o microbiana.

20 "Microbio" se refiere a cualquier organismo natural o
modificado genéticamente caracterizado como bacteria,
hongo, alga microscópica, protozoo y las etapas de
desarrollo o etapas del ciclo de vida (por ejemplo,
vegetativa, esporas (incluida la esporulación, latencia y
25 germinación), latente, biopelícula asociadas con el
organismo.

"Microbioma" se refiere ampliamente a los microbios
que residen en o en el sitio del cuerpo de un sujeto o
paciente. Los microbios en un microbioma pueden incluir
30 bacterias, virus, microorganismos eucariotas y/o virus. Los
microbios individuales en un microbioma pueden ser
metabólicamente activos, durmientes, latentes o existir

como esporas, pueden existir de forma planctónica o en biopelículas, o pueden estar presentes en el microbioma de manera sostenible o transitoria. El microbioma puede ser un microbioma comensal o de estado saludable o un microbioma de estado de enfermedad. El microbioma puede ser nativo del sujeto o paciente, o los componentes del microbioma pueden haberse modulado, introducido o deplecionado debido a cambios en el estado de salud (por ejemplo, estado precanceroso o canceroso) o a las condiciones de tratamiento (por ejemplo, tratamiento antibiótico, exposición a diferentes microbios). En algunos aspectos, el microbioma se produce en la superficie de la mucosa. En algunos aspectos, el microbioma es un microbioma intestinal. En algunos aspectos, el microbioma es un microbioma tumoral.

Un "perfil de microbioma" o una "firma de microbioma" de un tejido o muestra se refiere a una caracterización al menos parcial de la composición bacteriana de un microbioma. En algunas realizaciones, un perfil de microbioma indica si al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 o más cepas bacterianas están presentes o ausentes en un microbioma. En algunas realizaciones, un perfil de microbioma indica si al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 o más cepas bacterianas asociadas al cáncer están presentes en una muestra. En algunas realizaciones, el perfil del microbioma indica la cantidad relativa o absoluta de cada cepa bacteriana detectada en la muestra. En algunas realizaciones, el perfil del microbioma es un perfil de microbioma asociado al cáncer. Un perfil de microbioma asociado al cáncer es un perfil de microbioma

que se produce con mayor frecuencia en un sujeto que tiene
cáncer que en la población general. En algunas
realizaciones, el perfil de microbioma asociado al cáncer
comprende un mayor número o cantidad de bacterias asociadas
5 al cáncer que lo que normalmente está presente en un
microbioma de un tejido o muestra por lo demás equivalente
tomado de un individuo que no tiene cáncer.

"Modificado" en referencia a una bacteria en general
se refiere a una bacteria que ha sufrido un cambio desde su
10 forma silvestre. Los ejemplos de modificaciones bacterianas
incluyen modificación genética, expresión genica,
modificación del fenotipo, formulación, modificación
química y dosis o concentración. Los ejemplos de
propiedades mejoradas se describen a lo largo de esta
15 especificación e incluyen, por ejemplo, atenuación,
auxotrofia, migración dirigida o antigenicidad. La
modificación del fenotipo podría incluir, a modo de
ejemplo, crecimiento de bacterias en medios que modifican
el fenotipo de una bacteria que aumenta o disminuye la
20 virulencia.

Como se usa en el presente documento, un gen está
"sobreexpresado" en una bacteria si se expresa a un nivel
más alto en una bacteria modificada genéticamente en al
menos algunas condiciones que las expresadas por una
25 bacteria de tipo silvestre de la misma especie en las
mismas condiciones. De manera similar, un gen está
"subexpresado" en una bacteria si se expresa a un nivel
inferior en una bacteria modificada genéticamente en al
menos algunas condiciones en las que se expresa en una
30 bacteria de tipo silvestre de la misma especie en las
mismas condiciones.

Los términos "polinucleótido" y "ácido nucleico" se

usan indistintamente. Se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, ya sean desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos o análogos de los mismos. Los polinucleótidos pueden tener cualquier
5 estructura tridimensional y pueden realizar cualquier función. Los siguientes son ejemplos no limitantes de polinucleótidos: regiones codificantes o no codificantes de un gen o fragmento de gen, loci (locus) definido a partir del análisis de la unión, exones, intrones, ARN mensajero
10 (ARNm), microARN (miARN), ARN de silenciación (siARN), ARN de transferencia, ARN ribosómico, ribozimas, ADNc, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN aislado de cualquier secuencia, ARN aislado de cualquier secuencia, sondas de ácidos
15 nucleicos y cebadores. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos y análogos de nucleótidos metilados. Si están presentes, las modificaciones a la estructura de nucleótidos pueden impartirse antes o después del ensamblaje del polímero. Un
20 polinucleótido puede ser modificado adicionalmente, tal como mediante conjugación con un componente de marcaje. En todas las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en el presente documento, los nucleótidos U son intercambiables con los nucleótidos T.

25 Un "oncobioma", como se usa en el presente documento, comprende microbiota patogénica, tumorigénica y/o asociada al cáncer, en el que la microbiota comprende uno o más de un virus, una bacteria, un hongo, un protista, un parásito u otro microbio.

30 Los microbios y bacterias "oncótrofos" o "oncófilos" son microbios altamente asociados o presentes en un microambiente de cáncer. Pueden seleccionarse,

preferentemente, dentro del entorno, crecer preferentemente en un microambiente de cáncer o perfeccionarse en dicho entorno.

"Unidades taxonómicas operativas" y "OTU " se refieren a una hoja terminal en un árbol filogenético y están definidos por una secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, el genoma completo o una secuencia genética específica y todas las secuencias que comparten identidad de secuencia con esta secuencia de ácido nucleico a nivel de especie. En algunas realizaciones, la secuencia genética específica puede ser la secuencia 16S o una porción de la secuencia 16S. En otras realizaciones, los genomas completos de dos entidades se secuencian y se comparan. En otra realización, determinadas regiones, tales como marcadores de secuencia multilocus (MLST), genes específicos o conjuntos de genes pueden compararse genéticamente. Para el 16S, las OTU que comparten ≥ 97 % de identidad de nucleótidos promedio en todo el 16S o alguna región variable del 16S se consideran la misma OTU. Véase, por ejemplo, Claesson MJ, Wang Q, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, Cole JR, Ross RP y O'Toole PW. 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Res* 38: e200. Konstantinidis KT, Ramette A y Tiedje JM. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361, 1929-1940). Para genomas completos, MLST, genes específicos, aparte de 16S, o conjuntos de genes, las OTU que comparten ≥ 95 % de identidad de nucleótidos promedio se consideran la misma OTU. Véase, por ejemplo, Achtman M y Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat. Rev. Microbiol.* 6: 431-440.

Konstantinidis KT, Ramette A y Tiedje JM. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361, 1929-1940). Las OTU se definen con frecuencia comparando secuencias entre organismos. En general, las secuencias con menos del 95 % de identidad de secuencia no se consideran parte de la misma OTU. Las OTU también se pueden caracterizar por cualquier combinación de marcadores de nucleótidos o genes, en particular, genes altamente conservados (por ejemplo, genes "constitutivos") o una combinación de los mismos. Las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU) con asignaciones taxonómicas hechas a, por ejemplo, el género, la especie y el clado filogenético se proporcionan en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, el término "vesícula extracelular" o "VE" o se refiere a una composición derivada de una bacteria que comprende lípidos bacterianos y proteínas bacterianas y/o ácidos nucleicos bacterianos y/o restos de hidratos de carbono contenidos en una nanopartícula. Estas VE pueden contener 1, 2, 3, 4, 5, 10 o más de 10 especies diferentes de lípidos. Las VE pueden contener 1, 2, 3, 4, 5, 10 o más de 10 especies de proteínas diferentes. Las VE pueden contener 1, 2, 3, 4, 5, 10 o más de 10 especies diferentes de ácido nucleico. Las VE pueden contener 1, 2, 3, 4, 5, 10 o más de 10 especies diferentes de hidratos de carbono.

Como se usa en el presente documento, una sustancia es "pura" si está sustancialmente libre de otros componentes. Los términos "purificar" "que purifica" y "purificado" se refieren a una VE u otro material que se ha separado de al menos algunos de los componentes con los que estaba asociado, ya sea cuando se produjo o generó inicialmente

(por ejemplo, ya sea en la naturaleza o en un entorno experimental), o durante cualquier momento después de su producción inicial. Una VE puede considerarse purificada si se aísla en o después de la producción, tal como de uno o
5 más componentes bacterianos y una población microbiana o microbio purificados pueden contener otros materiales hasta aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%,
10 aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90 % o superior a aproximadamente el 90 % y todavía se considera "purificado". En algunas realizaciones, Las VE purificadas son más de aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 85%,
15 aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%, aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98%, aproximadamente el 99%, o más de
20 aproximadamente el 99% de pureza. Las composiciones de VE y componentes microbianos de los mismos, por ejemplo, se purifican a partir de productos de hábitat residuales.

Como se usa en el presente documento, la expresión "composición de VE purificada" o "composición de VE" se
25 refiere a una preparación que incluye VE que se han separado de al menos una sustancia asociada encontrada en un material fuente (por ejemplo, separada de al menos otro componente bacteriano) o cualquier material asociado con
las VE en cualquier proceso utilizado para producir la
30 preparación. También se refiere a una composición que se ha enriquecido o concentrado significativamente. En algunas realizaciones, las VE se concentran 2 veces, 3 veces, 4

veces, 5 veces, 10 veces, 100 veces, 1.000 veces, 10.000 veces o más de 10.000 veces.

"Productos de hábitat residuales" se refiere al material derivado del hábitat de la microbiota dentro o sobre un sujeto. Por ejemplo, los microbios viven en las heces en el tracto gastrointestinal, en la propia piel, en la saliva, en el moco del tracto respiratorio o en secreciones del tracto genitourinario (es decir, material biológico asociado con la comunidad microbiana).

10 Sustancialmente libre de productos residuales del hábitat significa que la composición microbiana ya no contiene la materia biológica asociada con el ambiente microbiano en o sobre el sujeto humano o animal y está 100 % libre, 99 % libre, 98% libre, 97% libre, 96 % libre o 95 % libre de

15 cualquier material biológico contaminante asociado con la comunidad microbiana. Los productos residuales del hábitat pueden incluir materiales abióticos (incluida la comida no digerida) o pueden incluir microorganismos no deseados. Sustancialmente libre de productos de hábitat residuales

20 también puede significar que la composición microbiana no contiene células detectables de un ser humano o animal y que solo se pueden detectar células microbianas. En una realización, sustancialmente libre de productos de hábitat residuales también puede significar que la composición

25 microbiana no contiene virus detectables (incluidos virus microbianos (por ejemplo, fagos)), fúngicas, contaminantes de micoplasma. En otra realización, significa que menos del 1×10^{-2} %, 1×10^{-3} %, 1×10^{-4} %, 1×10^{-5} %, 1×10^{-6} %, 1×10^{-7} %, 1×10^{-8} % de las células viables en la composición

30 microbiana son humanas o animales, en comparación con las células microbianas. Hay múltiples formas de lograr este grado de pureza, ninguno de los cuales es limitante. Por

tanto, la contaminación puede reducirse aislando los constituyentes deseados a través de múltiples etapas de raspado en colonias individuales en medios sólidos hasta la replicación (tales como, pero sin limitación), el raspado
5 de colonias únicas en serie ha mostrado solo una morfología de colonia única. Como alternativa, la reducción de la contaminación puede lograrse mediante múltiples rondas de diluciones en serie hasta las células deseadas individuales (por ejemplo, una dilución de 10^{-8} o 10^{-9}), tal como a
10 través de múltiples diluciones en serie de 10 veces. Esto puede confirmarse adicionalmente mostrando que múltiples colonias aisladas tienen formas de celulares y comportamiento de tinción de Gram similares. Otros métodos para confirmar la pureza adecuada incluyen análisis
15 genético (por ejemplo, PCR, secuenciación de ADN), serología y análisis de antígenos, análisis enzimático y metabólico, y métodos que utilizan instrumentación, tal como citometría de flujo con reactivos que distinguen los constituyentes deseados de los contaminantes.

20 Como se usa en el presente documento, "unión específica" se refiere a la capacidad de un anticuerpo para unirse a un antígeno predeterminado o la capacidad de un polipéptido para unirse a su pareja de unión predeterminada. Típicamente, un anticuerpo o polipéptido se
25 une específicamente a su antígeno o pareja de unión predeterminada con una afinidad correspondiente a una K_D de aproximadamente 10^{-7} M o menos, y se une al antígeno/pareja de unión predeterminado con una afinidad (expresada por una K_D) que es al menos 10 veces menor, al menos 100 veces
30 menor o al menos 1000 veces menor que su afinidad por la unión a un antígeno/pareja de unión no específico y no relacionado (por ejemplo, BSA, caseína). Como alternativa,

la unión específica se aplica más ampliamente a un sistema de dos componentes donde un componente es una proteína, lípido o hidrato de carbono, o una combinación de los mismos, y se acopla an el segundo componente, que es una
5 proteína, lípido, hidrato de carbono o una combinación de los mismos de una manera específica.

Los términos "sujeto" o "paciente" se refieren a cualquier animal. Un sujeto o un paciente descrito como "en necesidad del mismo" se refiere a uno que necesita un
10 tratamiento para una enfermedad. Los mamíferos (es decir, animales mamíferos) incluyen seres humanos, animales de laboratorio (por ejemplo, primates, ratas, ratones), ganado (por ejemplo, vacas, ovejas, cabras, cerdos) y mascotas domésticas (por ejemplo, perros, gatos, roedores).

"Cepa" se refiere a un miembro de una especie bacteriana con una firma genética tal que se puede diferenciar de miembros estrechamente relacionados de la misma especie bacteriana. La firma genética puede ser la ausencia de todo o parte de al menos un gen, la ausencia de
20 todo o parte de, al menos, en la región reguladora (por ejemplo, un promotor, un terminador, un riboswitch, un sitio de unión al ribosoma), la ausencia ("curado") de al menos un plásmido nativo, la presencia de al menos un gen recombinante, la presencia de al menos un gen mutado, la
25 presencia de al menos un gen extraño (un gen derivado de otra especie), la presencia de al menos una región reguladora mutada (por ejemplo, un promotor, un terminador, un riboswitch, un sitio de unión al ribosoma), la presencia de al menos un plásmido no nativo, la presencia de al menos
30 un casete de resistencia a antibióticos o una combinación de los mismos. Las firmas genéticas entre diferentes cepas se pueden identificar mediante amplificación por PCR,

opcionalmente seguida de secuenciación de ADN de la región o regiones genómicas de interés o del genoma completo. En el caso en que una cepa (en comparación con otra de la misma especie) haya ganado o perdido resistencia a los
5 antibióticos o haya ganado o perdido una capacidad biosintética (como una cepa auxotrófica), las cepas se pueden diferenciar mediante selección o contraselección usando un antibiótico o un nutriente/metabolito, respectivamente.

10 Como se usa en el presente documento, el término "tratar" una enfermedad en un sujeto o "tratar" a un sujeto que tiene o se sospecha que tiene una enfermedad se refiere a someter al sujeto a un tratamiento farmacéutico, por ejemplo, la administración de uno o más agentes, de tal
15 manera que al menos un síntoma de la enfermedad se reduce o se evita que empeore. Por tanto, en una realización, "tratar" se refiere, entre otras cosas, a retrasar la progresión, acelerar la remisión, inducir la remisión, aumentar la remisión, acelerar la recuperación, aumentar la
20 eficacia de o disminuir la resistencia a productos terapéuticos alternativos, o una combinación de los mismos.

Bacterias

En determinados aspectos, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden
25 bacterias *Prevotella* y/o VE de *Prevotella* fabricadas a partir de bacterias. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden VE de *Prevotella* y/o bacterias *Prevotella* de la especie *Prevotella albensis*, *Prevotella amnii*, *Prevotella bergensis*, *Prevotella bivia*,
30 *Prevotella brevis*, *Prevotella bryantii*, *Prevotella buccae*, *Prevotella buccalis*, *Prevotella copri*, *Prevotella dentalis*, *Prevotella denticola*, *Prevotella disiens*, *Prevotella*

histicola, *Prevotella melanogenica*, *Prevotella intermedia*,
Prevotella maculosa, *Prevotella marshii*, *Prevotella*
melaninogenica, *Prevotella micans*, *Prevotella multiformis*,
Prevotella nigrescens, *Prevotella oralis*, *Prevotella oris*,
5 *Prevotella oulorum*, *Prevotella pallens*, *Prevotella salivae*,
Prevotella stercorea, *Prevotella tanneriae*, *Prevotella*
timonensis, *Prevotella jejuni*, *Prevotella aurantiaca*,
Prevotella baroniae, *Prevotella colorans*, *Prevotella*
corporis, *Prevotella dentasini*, *Prevotella enoeca*,
10 *Prevotella falsenii*, *Prevotella fusca*, *Prevotella*
heparinolytica, *Prevotella loescheii*, *Prevotella*
multisaccharivorax, *Prevotella nanceiensis*, *Prevotella*
oryzae, *Prevotella paludivivens*, *Prevotella pleuritidis*,
Prevotella ruminicola, *Prevotella saccharolytica*,
15 *Prevotella scopos*, *Prevotella shahii*, *Prevotella*
zoogoleoformans, o *Prevotella veroralis*.

En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* es la
cepa B 50329 de *Prevotella* (número de acceso en NRRL B
50329). En algunas realizaciones, la cepa de *Prevotella* es
20 una cepa que comprende al menos el 90%, al menos el 91%, al
menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el
95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, o
al menos el 99% de identidad de secuencia (por ejemplo, al
menos el 99.5% de identidad de secuencia, al menos el 99.6%
25 de identidad de secuencia, al menos el 99.7% de identidad
de secuencia, al menos el 99.8% de identidad de secuencia,
al menos el 99.9% de identidad de secuencia) con la
secuencia de nucleótidos (por ejemplo, la secuencia
genómica, la secuencia 16S, la secuencia CRISPR) de la cepa
30 B 50329 de *Prevotella*. En algunas realizaciones, la
bacteria *Prevotella* es una cepa de la bacteria *Prevotella*
que comprende uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7,

8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 o más) proteínas enumeradas en la Tabla 1 y/o uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 o más) genes que codifican proteínas enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* comprende todas las proteínas enumeradas en la Tabla 1 y/o todos los genes que codifican las proteínas enumeradas en la Tabla 1.

Tabla 1: Proteínas de *Prevotella* de ejemplo

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
15	Clúster: Proteína no caracteriz ada	G6ADE1	MNLKTFTKTVLCFALFAVSAITAKAADHL
			AIVGEAVWGGWDLVKATAMVKSPNNPDVF
			MATVHLNAGKGFKFLTEREWGKLEYRSGA
			SDVVLKSGIRYKLYASIGASEDGKFKVSE
			SANYEIIICDLARKTVEVKKVAYQAKEIRY
20			AALWMIGDATAGDWDYNNGVLLSQDSGNP
			TCYTATVELKEGEFKFTTNKQWGYDHSVY
			IFRDVNDQNKIVFGGEDNKNWRITEDGMYN
			VTVDVPTKTISIKQIDDPAGHKPQFGNDV
			ILVGDATIAGWNLDNAIYLEHTGQAGRVF
25			KTTTTYLEAGKGFKFLSMLSYDDIDYRPA
			NTVLNPGVPGTFVPSLPSSTDTKFSVERS
			GNVDIVCNMNNRTVVVTLSENQVLVNYP
			LWLIGSATSAGWNPGKAVELKRSEADPAV
			YTARVQLKKGEFKILTSKNVGFQPTYR
30			DSTNEHRIVFGVDGDEVAKKDCKWTLS
			ENAEAGTYDVTVDIEAMTIFCDKVNMD
			EPSVESTDKELILIGDATYSAWDLPKSIV
			MTPVG

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			PTTFKAVTHLEAGKEFKFLTELAWKRYEY RAESLRKELQEGSMSMLVPYRYTNDKDDK DHDFKFVVKESGNYEIVCDLYIPALIIRK VRYQDTPVTYSSLWIVGSATPGGWTIERG IKMTQDENYPTKFTAKANLVPGELKFATN KFADFTQDFFFRGKDDYTAVLGGNDNKWN ITEAGTYSVTIDVASKRVTITKPARNAPT GISTVDSSDEAPAEYFTLNGIKVTPSSG IYIKRQGGRTTKVVMK
10			
15	Transporta dor de_nicotin amida_ribó sido_PnuC	P24520	MDTYQILDIIGCIVGLIYIYQYKASIWL WMTGIIMPVIYMFVYEEAGLYADFGMQIY YTLAAIYGyLYWKLGGKKGTEDKEIPITH FPRRYIIPAIIVFFVLWIALYIILICFTN STVPVLDSFGNALSFIGLWALAKKYLEQW WIWIVVDAELSALYIYKGIPFTAMLYALY TVIAGAGYFKWRRYIKQQK
20			
25	Pectato_tr isacárido- liasa	Q8GCB2	MRVRLYKNILLFLFLWVNTLACVSADTSR TVESQPIENGLIITESKGWLETIYAKWKP VAEADGYVYVKGGQYADYSKVDSELIRV YNGYVRVDIPGLKAGTYSLKIVAVKGGKE TQSSEVTGLKVLNYVREGFAHKNYSGVGA YNDDGTLKSGAVVIYVNKDNAKTVSAHLG KTTFIGLQAILNAYQKGNITTPLSVRILG LLRNGDTDTFGSSTEGIQIKGKQADSEM NITIEGIGEDASIYGFGFLVRNAKSVEFRN LGIMRAMDDGVSLDTNNSNIWIHHMDLFY GKASGGDHIKGDGSIDVKTDISKYVTIDNC HFWDTGKTSMCGMKKETGPNYITYHHNWF DHSDSRHARVRTMSVHLWNNYYDGCAYG
30			

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			IGATMGCSVFSENNYFRATKNPILISKQG SDAKGTGKFSGEPGGMVKEYGSLFTEKGA ESTYTPISYADNNSSFDFYHAISRNEKVP ASVKTLNGGNIYNNFDTDAALMYSYTPDA TALVPSQVTGFYAGRLNHGSLQFKFNNA VEDTNSTPIPALEALIDAYSGK
10			MKYNIAYCIEGFYNHGGMERILSVCANLL SDIYSITIIVANQRGREHAYNLAQNVNVV DLGVSCKNYKEEYKKS LTRYLQDHQFSVV ISLAGLELFFLPQIKDGSKKVMWFHFAFD VSKMFLSERFHGWKLNLLYYIHTIRRIYF 15 AKKFD TIVLSKSDCDSWSRFCNNVKYIY NPITIDRKVISNLSEESVIAVGR LGWQKG FDFLIDSWVLVDDKHPDWHLDIFGEGPDR LELQH QIDRKGLHDKVRLCGVTKQIEEEY 20 GKHSIYVMSSRAEGFPLALLEASSCGLPM ISFNCHQGPNEIIQEGENGFLVDKVGDIY TLSDRICKLIEDNNLRNMMGKKALDSSFR FEGEVIKKDWISLLKQLI
25	Clúster: Proteína TonB	A0A096B7 59	MKRLFFMFLFLGTITMNSLAQEEKPIKYE TKNFSLPDKMPLYPGGDGALRAFLSLNLH YPEKAQAFGVEGRSLMKFCVSSDGSIKDI SAVDCKITNYNRTEFNKLPLSKQESLKKE CAKAFAKEAARVIRLMPKWEPAELNGKKM NVYYSLPFTFKLR
30	Clúster: Proteína no	G6AEN6	MNYPLFIARKIYNGGDRTRKVS KPAIRIA TIGVAIGLAVMIISVG VVLGFKHTIRNKV VGFGSDITVANFLTLQSSEQYPIQITDSL

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	caracteriz ada		VKSLQITPGIKHVQRYDYTQGILKTDNDF LGVLLKGVGPDEFDSTFIHENMVEGSLPHF HDNESQQKIVISKTIADKLNKVGQRIFA YFINKQGVTRKFTITGIYATNMKQFDSQ ICFTDIYTTNKLNGWEPDQYSGAELQVDN FSQLTPISMRVLNKVKNTVDHYGGTYSSE 10 NIIEQNPQIFSWLDLMDMNWIIALMIS VAGVTMISGLLIIILERTQMIGILKALGS RNRQIRHIFLWFATFIIGKGLLWGNIIIGL GCILFQSWTGLVKLDPQTYVNTVPVEIN IPLIIALNMVTMLVCLVILIAPSYLISHI 15 HPAKSMHYE
20	(p) ppGpp_s intasa/hid rolasa_bif 25 uncional_R elA	P9WHG9	MEDKFIYTDKERKLSYQILDELKDTLDKS FLENDLPMLQVQLKDSVAKNTIHRNVFGL NPILCSLQTAAIAVKDIGLKRDSVIAILL HQSVDGYITLEDIDNRFGKSVAKIIHGL IRIQTLYQKNPIIESENFNLLLSFAEDM RVILIMIADRVNLMRQIRDAEDKEAQHKV AEEASYLYAPLAHKLGLYQLKRELEDLSL KYLEHDAYYLIKDKLNATKASRDAYINQF IAPVRERLTAGGLRFHIKGRTKSIHSIWQ 25 KMKKQKCGFEGIYDLFAIRIILDAPLEKE KIQCWQAYSIVTDMYQPNPKRLRDWLSVP KSNGYECLHITVLGPEKKWVEVQIRTERM DEIAEHGLAAHWRYKGIKEEGGLDDWLAS IRAALEAGDNLEVMDQFKSDLYEKEIYVF 30 TPKGDLLKFPKGATILDFAYHIHISKVGNQ CVGGKINAKNVSLRTELHSGDTVEILTSA TQKPKAEWLKIVKSSRAKAKIRLALKETQ

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			IKDGLYAKELLERRFKNKKIEIEESTMGH LLRKLGFKEVSEFYKQVADEKLDPNYIIE EYQKVYNHDHNLNQPKETESAENFEFENP TNEFLKKNDDVLVIDKNLKGLDFSLAKCC HPIYGDVPVFGFVTVNGGIKIHRTDCPNAP EMRKRFGYRIVKARWSGKGSSQYAITLRV 10IGNDDIGIVSNITNVISKDEKIVMRSINI DSHDGLFSGNLVVLDDNSKLNMLIKCLR TVKGVKQVTRI
15	Vitamin_B1 2_import_s ystem_perm ease_prote in_BtuC	P06609	MKRRIFLFVALSVSIVILFGLNLIIGSVH IPLSDILTILSGSFTGKESWRFIIWDSRL PQALTAMLCGSSLAVCGLMLQTAFRNPLA GPDVFGISSGASLGVALVMLLLGGTVETS MFTASGFLAILIVAFAGAILVTAFILFLS SVVRNSVLLLIVGIMVGIVASSAVTLLNF 20FSSDGVKGYIVWGMGNFGGVSMSHIPLF AFLCLAGIIASFLLVKPLNILLGPGQYAE SLGISIRRIRNILLVVGILTAVTTAFCG PISFIGLAAPHVARLLFR TENHQKLLPGT LLVGTVVALLCNLICFLPRESGMIPLNAV TPLIGAPIIIYVIMKRH
25	subunidad_ C/D_de_NAD H- quinona_ox idorreduct asa	P33599	MKLENKEFGFDSFATEMARLKNEKHFDYL VTVVGEDFGTEEGLGCIYILENTSTHERC SVKQLAKKVGEFVIPSVIKLWADADLLE REYDYDFYGIKFLGHPDMRRLFLRNDFKGY 30PLRKDYDMDPAKNMYTTEDDVELDTTTEW NLDKNGELVGTQHALFTDDNFVNVNIGPQH PSTHGVLRLQTVLDGETVTNIYPHLYIH RGIEKLCEQFTYPQTLALTDRMNYLSAMM

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			NRHALVGVIEEGMGIELSERILYIRTIMD ELQRIDNHLLYTACCAQDLGALTAFLYGM RDREHVLNVMEETTGGRLIQNYRIGGLQ ADIDPNFVSNVKELCKYLRPMIQEYVDVF GDNVITHQRFEGVGVMDKDCISYGVGTGP AGRASGWKNDVRKYHPYAMYDKVNFEET LTNGDSMDRYFCHIKEIYQSLNIEQLID NIPEGEFYIKQKPIIKVPEGQWYFSVEGA SGEFGAYLDSRGDKTAYRLKFRPMGLTLV GAMDKMLRGQKIADLVTTGAALDFVIPDI DR
10	Peptidil- prolil_cis - trans_isom eraza_de tipo FKBP	P45523	MRTSTQSKDMGKKQEYKLRNEEFLLHNISK KDSIKTLPHGIFYEIIKEGSGEGTVQPRS IVICNYRGLISGQVFDDSWQKPTPEAFR LNELITGLQIALCAMHKGDSWRIYIPYQE GYGSKRNADIPAFSTLIFDIELINIA
15	Subunidad_ pequeña de la_acetola ctato_sint asa_putati va	P9WKJ3	MADNKIAKESVKREVIAGERLYTLLVYSE NVAGVLNQIAAVFTRRQVNIESLNVSASS IEGIHKYTITAWSDAATIEKITKQVEKKI DVIKADYYEDSDLFIHEVGlyKIATPILL ENAEVSRAIRKRNARMMEVNPTYSTVLLA GMTDEVTALYHDLKNFDCLLQYSRSGRVA VTRGFSEPVSDFLKSEEESSVL
20	Transporta dor_de serine/tre onina_SstT	P0AGE4	MKKKVKIGLLPRVIAILLGIFFGYFMPT PLARVFLTFNGIFSQFLGFMIIPIIIGLV TPAIADIGKGAGKLLLVTVIIAYVDTVVA GGLAYGTGLCLFPSMIASSTGGAMPHIDKA
25			
30			

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			TELAPYFSINIPAMADVMSGLVFSFMLGL GIAYGGLTATKNIFNEFKYVIEKVIKAI IPLLPLYIFGVFLNMAHNGQAQQILLVFS QIIIVILVLHVFIIVYQFCIAGAIIRNP FRLLWNMMPAYLTALGTSSSAATIPVTLE QTMKNGVGKEIAGFVVPLCATIHLSGSAM KITACALTICLLVGLPHDPALFIYFILML SIIMVAAPGVPGGAIMAALAPLASILGFN SEAQALMIALYIAMDSFGTACNVTGDGAI ALVVNKMFGKKER
10			
15	Clúster: Proteína no caracteriz ada	G6AJ07	MKKLLLLVCAAVMSLSASAQAGDKALGAQ LVFGSETNSLGFGVKQYYFTDHIRGECS FDYFLKNKGISMWDINANVHYLFDVADKF KVYPLAGLGYTNWSYKYEYAGAPVVEGSD GRLAVNLGGGVEYELTKNLNVNAEAKYQI ISNYNQLVLGVGVAYKF
20	Proteína_d e unión a_ATP_de diferencia ción_de_he terocistes	P22638	MHFYCTKSSLDTMSERYVKRMIAKLASQG KTVISIAHRFSTIMDAKHIIILLAKGKVVA EGTHQELLKTSEDYRKLWSDQND EID
25			
30	UDP-2.3- diacilgluc osamina_hi drolasa	Q9I2V0	MKNVYFLSDAHLGSLAIAHRRTQERRLVR FLDSIKHKASAVYLLGDMFDFWDEYKYVV PKGFTRFLGKVSELDMGVEVHFFTGNHD LWTYGYLEEECGVILHRKPVTMEIYGKVF YLAHGDGLGDPDPMFQFLRKVFHNRVCQR LLNFFHPWWGMQLGLNWAKKSRKLRADGK

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			EMPYLGEDKEYLVRYTKDYMRSHKDIDYY IYGHRHIELDLTLSGKVRMLILGDWIWQF TYAVFDGEHMFLEEYIEGESKP
10			MNSKQNDNYDVIIIGGGITGAGTARDCAL RGLKVLLVEKFDFDTNGATGRNHGLLHSGA RYAVTDPESEATECIKENMVLRRIAKHCIE ETDGLFITLPEDDINYQKTFVEACARAGI SANIISPEEALRLDPSVNPDLGAVRVPD ASVDPFHLTTANVLDARQHGADVLTYTEV VAILTSNGRVEGVRLRNNHTGEEIEKHAV LVINAAGIWGHDIKMAKINMFPKGT LLVFGHRVNMVINRCRKPANADILVPDD AVCVIGTTSDRVPYDTVDNLKITSEEVDT LIREGEKLAPSLATTRILRAYAGVRPLVA ADNDPTGRSISRGIVCLDHEKRDGLTGMI TITGGKMMTYRLMAEQATDLACKKLGINK TCETATTPLPGTAGKSDNPHHTYSTAHK AAKGRQGNRVKEIDERTEDDRALICECEE VSVGEAKYAIEELHVHDLNLRRRTRVGM GTCQGELCACRAAGVMCENGVKVDKAMTD LTKFINERWKGMRPVWGSTLDEAQLTTI IYQGLCGLGI
15	Glicerol- 3- fosfato_de shidrogena sa anaeróbica	P0A9C0	
20			
25			
30	Glicerol- 3- fosfato_de shidrogena sa anaeróbica	P13033	MRYDTIIIGGGLSGLTAGITLAKAGQKVC IVSAGQSSLHFHSGSFDLLGYDADGEVVT HPLQAIADLKAHPYSKIGISNIEHLASQ AKTLLCEAGISVMGNYEQNHRYVTPLGTL KPAWLTTGYAMIDDPEILPWKKVELLNI QGFMDFFTQFIAENLRMMGVEQCQIKTFTT DELSTARQSPTMRATNIAKVLANKDALS

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			KVSERINAIISGDPDALLLPVVLGFSNAES LDEMKQWIKKPVQYIATLPPSVSGVRTTI LLKRLFAQAGGTLIGDSATTGQFSGNHL VSITTDHLPDEKLYADHFILASGSFMSHG IRSNYAGVYEPVFKLDVDAEKRDDWSVT NAFEAQPYMEFGVHTDKDFHATKDGKNIE 10 NLYAIGSVLSGHNSIKHADGTGVSLLTAL YVAKKITGKG
15	Glicerol- 3- fosfato_de shidrogena sa anaeróbica	P0A996	MAEGIQLKNIISGNNLEQCLKCSICTAYCP VSAVEPKYPGPKQSGPDQERYRLKDSKFF DEALKMCLNCKRCEVACPSGVRIADI IQA SRITYSTHRPIPRDIMLANTDFVGTMANM VAPIVNATLGLKPVKAVLHGVMGIDKHRT FPAYSSQKFETWYKRMAAKQDSYSKHVS YFHGCYVNYNFPQLGKDLVKIMNAVGYGV 20 HLLLEKEKCCGVALIANGLSGQARRQGKVN IRSIRKAAEQNRIVLTTSSTCTFTMRDEY EHLDDIKTDDVRENITLATRFLYRLIEKG DIKLAFRKDFKMRTAYHSACHMEKMGWII YSTEELKMI PGLELIMLDSQCCGIAGTYG FKKENYQRSQEIGGLFKQIKELNPDCVS 25 TDCETCKWQIEMSTGYEVKNPISILADAL DVEETIKLNQ
30	Proteína_f acilitador a de la captación_ de glicerol	P18156	MMIKNIVLSIPISLIIYLNHLIMEYSMTT QFLMELIGTLILVLFGDGVCACVTLNKSK GQKAGWVITIAWGLAVCMGVLVAGPYTG AHLNPAVSIGLAVAGMFPWSSVPYYIVAQ MIGGFLGGLLVWFFYKDHYDATDDEAAKL GTFCTSPAIRNYKMNFLSEVIATLVLVFI

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			IISFSVDGNTGDAEHFKFGLAALGPIPV LLIIALGMSLGTTGYAMNPARDLSPRLA HAVCMKGDNDWSYSWIPVLGPIIGAI FCGAALLV
10			MSEKIIPSNEPAQAASEPIKASYTEYTVI PSQGYCQFVKCKKGDQPVVLKGLKEAYRE RVLLRNALKREFKQCQRLNHPGIVRYQGL VDVEGYGLCIEEEYVDGRTLQAYLKESHT DDEKITIVNQIADALRYAHQQGVAHRNLK PSNILITKQGDHVKLIDFNVLSLDDVKPT ADTTFRMAPELKDEMTADGTADIYSLGT IMKVMGLTLAYSEVIKRCCAFKRSDRYSD IDEFLADFNHDGSSFSMPKIGKGTVVIGF IAVVVIALAALAYNYGGALVDQVGKIDVT SIFKSDAETAPEDSAMVKSVEQNNNDSVA DEAPATGKLAFMNTMKPALYKDLDRFLFAK HSDDRAKLNRAIKVYYRGLIQANDTLTNE QRAELDRVFGNYVKQKKAALK
15	Proteína_s erina/treo nina_quina sa_StkP	Q97PA9	
20			
25	Clúster: D-alanil- D-alanina dipeptidas a	G6AH11	MLVAQLFVGVLQAQKPVQNRQAVGQSME RQGLVNVKAVVPSIKVALMYARTDNFCHR MALS
30	Transporta dor_de_C4- dicarboxil ato_anaeró bico_DcuA	P0ABN5	MITGLVIIQLLIVLALIFIGARVGGIGLG IYGMIGVFILVYGFGGLAPGSAPIDVMMII VAVITAASALQASGGLEYLVGVAAKFLQK HPDHITYFGPITCWLFCVVAGTAHTSYSL MPIIAEIAQTNKIRPERPLSLSVIAASLG

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			ITCSPVSAATAALISQDLLGAKGIELGTV LMICIPTAFISILVAAFVENHIGKELEDD PEYKRRVAAGLINPEAACEEVQKAENEHD PSAKHAVWAFLEFGVALVILFGFLPQLRPE GVSMSQTIEMIMMSDAALILLVGKGKVG AVNGNIFKAGMNAVVAIFGIAWMGNTFYV 10 GNEKILDAALSSMISSTPILFAVALFLLS IMLFSQAATVTTLYPVGIALGINPLLLIA MFPACNGYFFLPNYPTEVAAIDFDRTGTT RVGKYVINHSFQIPGFITTIVSILLGVLM VQFFR
15			MRILKITFVTVLALVMSTVVFAQKPKIRI IATGGTIAGVSASATSSAYGAGQVGVQTL IDAVPQIKDIADVSGEQLVNIQSQDMNDE VWLKLAKRINDLLNKEGYDGVLIHTGTD MEETAYFLSLTVHTDKPVVMVGSMRPSTA 20 ISADGPANLYNGICTLVDPSSKGHGVMVC MNNELFEAKSVIKTHTTDVTSTFKGGLYGE MGYVYNGKPYFLHKPVAQGLTSEFNVDN LTSLPKVGIVYGYANCSPLPIQAFVNAKF DGIVLAGVGDGNFYKDVFVVALKAQNSGI 25 QIVRSSRVFPFGPTNLNGEVDDAKYHFVAS LNLNPQKARVLLMLALTCTKTDWQKIQQYF NEY
30	L- asparagina sa_2	P00805	MALACAMTMSASAQMGTNPKWLGDAlFYQ IYPSSYMDTDGNGIGDLPGITQKLDYIKS LGVNAIWLNPVFESGWFDGGYDVIDFYKI DPRFGTNTDMVNLVKEAHKRGIKVCLDLV AGHTSTKCPWFKESANGDRNSRYSDFIW
	Trehalosa_ sintasa/am ilasa_TreS	P9WQ19	

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			TDSISEADKKEIAERHKEANPASSTHGRY VEMNAKRGKYYEKNFFECQPALNYGFAKP DPNQPWEPVTPAPGPQAVRREMRNIMAFW FDKGVDFRVDMASSLVKNDWKGKEVSKL WNEMREWKDKNYPECVLISEWSDPAVAIP AGFNIDFMIHFGIKGYPSTLFFDRNTPWGK 10 PWPQGDISKDYKFCYFDKAGKGEVKEFVD NFSEAYNATKNLGYIAIPSANHDYQRPNI GTRNTPEQLKVAMTFFLTMPGVPFIIYYGD EIGMKYQMDLPSKEGSNERAGTRTPMQWT SGPTAGFSTCNPSQLYFPVDTEKGKLTVE 15 AQQNDPRSLLNYTRELTRLRHSQPALRGN GEWILVSKESQPYPMVYKRTSGGETVVVA INPSDKKVSANIAHLGAKSLIMTGKASY KTGKTEDAVELNGVSAAVFKIAE
20	Ribitol-5- fosfato_citidililtra nsferasa	Q720Y7	MNIAVIFAGGSGLRMHTKSRPKQFLDLNG KPIIIYTLLEFDNHPGIDAIVVACIESWI PFLEKQLRKFEINKVVKIVPGGESGQASI YNGLCAAEAYIKSKNVASEDTTVLIHDGV RPLITEETITDNINKVAEVGSCITCIPAT 25 ETLVVKQHDGSLEIPSRADSLIARAPQSF LLSDILTAHRAIDEKKNDFIDSCTMMSH YGYRLGTIIGPMENIKITPTDFFVLRAM VKVHEDQQIFGL
30	UDP- Glc:alfa- D-GlcNAc- difosfound ecaprenol	B5L3F2	MTEKKSVSIVLCTYNGTKYLQEQLDSILA QTYPLHEIIIQDDGSTDNTWQILEKYEEK YPLIHIIYHNEGTHGVNANFLSAMHRTTGD FIAIADQDDIWETDKIANQMTTIGNKLLC SGLTRPFSSDGSFAYFDNRPRNVSIFRMM

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			FLGLPGHTMLFRRELLRMPPVTHSFFNV SLYDAALSILAASHDSIAFCNKVLVNERR HADATTYNDYSRSLPSWQNGLYELLWGLR HYHQARSIALPIYRGKLALMEGITTNYHD FIEAKAIMRLETQKGLWAFLRLQYLLTKN HQRLEFQTSGGSFIKMIRAWLYPVMQLYMY HHALRRCK
10			
15			
20	27	UDP-N- acetilgluc osamina	P33038
25			MESFIIIEGGHRLSGTIAPQGAKNEALEVI CATLLTTEEVIIRNIPNILDVNNLIKLLQ DIGVKVKKLGANDFSFQADEVKLDYLESI DFVKKCSSLRGSVLMIGPLLGRFGKATIA KPGGDKIGRRRLDTHFLGFKNLGARFVRI EDRDVYEIQADKLVGDYMLLDEASVTGTA NIIMSAVMAEGTTTTIYNAACEPYIQQLCH LLNAMGAKITGIASNLITIEGVTSLHGAE HRILPDMIEVGSFIGMAAMVGDGVRIKDV SIPNLGLILDTFRRRLGVQIIIEDEDDLIIP RQDHYVIDSFIDGTIMTISDAPWPGLTPD LISVLLVVATQAQGSVLFHQKMFESRLFF VDKLIDMGAQIILCDPHRAVVVGHDHAKK LRAGRMSSPDIRAGIALLIAALTAEGTISR IDNIAQIDRGYENIEGRNLNALGAKVQRVE IC
30	28	Proteína_s ensora_Evg S	P30855
			MERSGNFYKAIRLGYILISILIGCMAYNS LYEWQEIEALELGNKKIDELRKEINNINI QMIKFSLLGETILEWNDKDIEHYHARMA MDSMLCRFKATYPAERIDSVRHLLLEDKER QMCQIVQILEQQQAINDKITSQVPVIVQK SVQEQPKKSKRKGFLGIFGKKEEAKPTVT

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			TTMHRSFNRNMRTQQAQSRRLSVHADSL AARNAELNRQLQGLVVQIDGKVQTDLQKR EAEITAMRERSFIQIGGLTG FVILLLVIS YII IHRNANRIKRYKQETADLIERLQQMA KRNEALITSRKKAVHTITHELRTPLTAIT GYAGLIQKNFNADKTGMYIRNIQQSSDRM 10 REMLNTLLSFFRLDDGKEQPNFSTCRISS IAHTLESEFMPIAINKGLALTVTNHTDAV VLTDKERILQIGNNLLSNAIKFTENGAVS LTMGYDNGMLKLIVKDTGSGMTEEEQQRV FGAFERLSNAAAKDGFGLGLSIVQRIVTM 15 LGGTIQLKSEKGKGSRFTVEIPMQSAEEL PERINKTQIHHRNRTLHDIVAI DNDKVLLL MLKEMYAQEGIHCDTCTNAAELMEMIRRK EYSLLLTDLNMPDINGFELLELLRTSNVG NSRIIPIIVTTASGSCNREELLERGFSDC 20 LLKPFSISELMEVSDKCAMKGKQNEKPDF SSLLSYGNESVMLDKLIAETEKEMQSVRD GEQRKDFQELDAL THHLRSSWEILRADQP LRELYKQLHGSAVPDYEALNNAVTA VLDK GSEIIRLAKEERRKYENG
25	Proteína_d e unión a fosfato_Ps tS	Q7A5Q2	MKRSRFYITVGLILSLTLLMSACGQKKAK DGRDTPPTSGTIKFASDESFSPIVEELLQ NYQFRYPQAHLLPIYTDDNTGMKLLLDQK VNLFITSHAMTKGEDAILRGKGPIPEVFP IGYDGI AFIVNRSNPDSCITVDDVKKILQ 30 GKI AKWNQLNPKNNRGSIEVVFDNKASAT LHYVVD SILGGKNIKSENIVAAKNSKSVI DYVNKTPNAIGVIGSNWLN DHRD TTNTTF

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			KKDVTVASISKATVASPSNSWQPYQAYLL DGRYPFVRTIYALLADPHKALPYAFANYI ANPIGQMIIFKAGLLPYRGNINIREVEVK NQ
10	Proteína_d e biosíntesi s_de purinas_bi funcional_ PurH	P9WHM7	MAGTKRIKTALISVFHKDGLDDLKLLDE EGVQFLSTGGTQQFIESLGYECQKVEDVT SYPSILGGRVKTLHPKIFGGILARRDNEE DQKQMV EY TIP AIDL VIVDLYPFEQTVAS GASAQDIIEKIDIGGISLIRAGAKNFKDV VIVPSKAEYPVLLQLLNTKGAETEIEDRK MFAERA FGVSSHYDTAHSWFAAE
15			MEEEEKGGRIGQRPYILKIITERNYIIIIID MKKAKILLFVTALVAVLTSCGGGQKGLPT SDEYPVITIGASNAQLKTTYPATIKGVQD VEVRPKVSGFITKLNIHEGEYVHAGQVLF VIDNSTYQAAVRQAQAQVNSAQSAVAQAK ANVVQANASLNSANAQAATSRLTYNNSQN LYNNKVIGDYELQSAKNTYETAQASVRQA QSGIASAQAAVKQAEAGVRQAQAMLSTAK DNLGFCYVKSPASGYVGS L PFKEDALVSA SSAQPVTTISNTSTIEVYFSMTEADVLKL SRTDDGLSNAIKKFPVSLLLADGSTYNH EGAIVKTSGMIDATTGTINVIARFPNPEH LLKSGSGKIVIAKNNNRALLIPQEAVTQ VQNKMFVYKVDADKDVHYSEITVDPQNDG INYIVTSG L KMGERIVSKGVSSLEDGAKI KALTPAEYEEAIKKA EKLGENQSSASGFL KTMKGDSK
20	Subunidad_ de la bomba_de salida_mul tifármacos _AcrA	P0AE06	
25			
30			

	Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	32	Proteína_d e división_c elular_Fts X	Q81X30	MAKRRNKARSHHSLQVVTLCISTAMVLIL
				IGMVVLTVFTSRNLSSYVKENLTVTMILQ
				PDMSTEEAALCQIRIRSLHYINSLNFISK
				EQALKEGTRELGANPAEFAGQNPFTGEIE
				LQLKANYANNDSIKNIERELRTRYGVSDI
10				TYPQNLVESVNHTLGKISLVLLVIAILLT
				IVSFSLMNNTIRLSIYARRFSIHTMKLVG
				ASWGFIRAPFLRRAVMEGLVSALLAIAVL
	GVGLCLLYDYEPDITKVLSWDVLVITAGV			
	MLAFGVLIATFCSWLSVNKFLRMKAGDLY			
	KI			
15	33	Transporta dor_de Fe (2+) _Feo B	Q9PMQ9	MKLSDLKTGETGVIVKVLGHGGFRKRIIE
				MGFIQ GKQVEVLLNAPLRDPVKYKIMGYE
				VSLRHSEADQIEVISAEEARQLEQAKADN
				EPQQGALSNNIPDESDHALTPFELTDAAN
				RKSKVINVALVGNPNCGKTSLFNFASGAH
20				ERVGNYSGVTVDAKVGRANYEGYEFHLVD
				LPGTYSLSAYSPEELYVRKQLVEKTPDVV
				INVIDASNLERNLYLTTQLIDMHVRMVCA
				LNMFDETEQRGDNIDYQKISELFGIPMVP
				TVFTNGRGVKELFHQVIAYVEGKEDETSQ
25				FRHIHINHGHELEGGIKNIQEHLRAYPDI
				CQRYSTRYLAIKLLHDKDVEELIKPLKD
				SDEIFKHRDIAAQRVKEETGNESETAIMD
				AKYGFIHGAAEADYSTGQKKDQTYQTTHF
				IDQILTNKYFGFPIFFLILFIMFTATFVI
30				GQYPMDWIDGGVSWLGDFISSNMPDGPVK
	DMLVDGIIGGVGAVIVFLPQILILYFFIS			
	YMEDSGYMARAAFIMDKLMHKMGLHGKSF			

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			IPLIMGFGCNVPAVMATRTIESRRSRLVT MLILPLMSCSARLPIYVMITGSFFALKYR SLAMLSLYVIGILMSVIMSRVFSRFLVKG EDTPFVMELPPYRFPTWKAIGRHTWEKGK QYLKKMGGIILVASIIVWALGYFPLPDKP DMGQQERQEHSFIGQIGHAVEPVFRPQGF 10 NWKLDVGLLAGVGAKEIVASTMGVLYSND DSFKDDNSFSSEGGKYVKLHKQITQDVAN LHGVSYNEAEPIATLTAFCFLLFVLLYFP CIATIAAIKGETGSWGVALFAAGYTTLLA WVVS AIVFQVGMLFIG
15			MKKNLLKAVLPASLALFAVTFGSCSQDGQ LTGTKEDTGERVLDNTREIQNYLRTLPLA PMMSRASDPVPSDDGTTVPVDEGTSKTEE KGVNLNGIPGSWVKTTTRYKMTQAFDESFL 20 FDPTSDIVYPGCVLKGGTIANGTYAIITS HETGDVTF SINLSPANPQEARETSATVHN IRKSEYQEVWNKWANMQWKESPITTIESV EKINSQEELATKLGAVNSPVANGSLNFG FNFNKKKNHILARLIQKYFSVSTDAPKKG NIFESIDKEALDGYQPVIISNINYGRIIY 25 LSVESDEDEKVVDEAINFAMNQIKGVDVS VSADQSLHYRKVLANC DIRITVLGGGQTI QKEVLKGDIDSFQRFLNADIPMEQMSPIS FSLRYAVDNSQARVVT SNEFTVTQRDFVP EFKKVRMQ LQVLGFSGTNTGPF PNLDREA 30 GLWGSISLSLNGQDNELVKISQSNPFFFN YREKKETMHPIGFGGIVTVEFDKDPNESL EDFVDHQKMTFVSDLHSTRSIYNYNFGRT

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			TFTHTLGLTYTKYKGDDPIFVLESNNKNV KIHTYVKVLDMKFFN
10			MTKFIYAMSLFLLAAISIKAQPIQKTS GC LLHGSVVSSTDATAIAGATVRLYQLKKLV GGTVSDASGNFDVKCPSSGSLQLRITAVG FKEVDTTLNVPVTPLSIYMRAGKHAMDE VTVTASEKRGMTSTTVIGQTAMEHLQPSS FADLLALLPGGMTKIPALGSANVITLREA GPPSSQYATSSLGTFVIDGQAIGTDANM QYIAGSFQGDADNSRNHVSYGVDMRIPT DNIEKVEVVRGIPSVKYGELTSGLINITR
15			KRSQSPLLLRLKADEYGKLVSVGKGFLLS GKWNLNVDGGLLDARKEPRNRFETYRRLT FSARLRRKWNLGERYVLEWSGATDYS LNI DNVKTDPEIQIHREDSYRSSYLKMG MNHR
20	Clúster: Proteína no caracteriz ada	G6AG77	LLLRRKALVGLQSVSLAYSASLASDRIHQ TEAVALQRDYVVPLAYEGGEYDGLFLPMQ YLCDYRVEGKPFYSTLRGETEWLARTSFI SHHITAGGEFLLNKNYGRGQIFDITKPLH ASTARRPRSYKDIPATDILSFYAEDKATM PIGKHQLTVMAGLRTTQMLNIPASYAVHG
25			KLFTDTRVNVQWDFPSFLGFKSFVSGGLG MMTKMPTVLDLYPDYVYKDITEMNYWDIR PAYKRIHIRTYKLNQVNPDLRPARNKKWE IRLGMDKGAHHFSVTYFHEDMKDGRSTT TMRPFIYKRYDTSVINPSALTGPPSLASL
30			PVVTDTLLDGYGRTENGSRITKQGIEFQY SSPRIPVIQTRITVNGAWFRTLYENSIPL FRSAPNVVGTVAIADRYAGGYMSTD KYD

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			KQIFTSNFIFDSYVDKLGLILSATAECFW MSNTKRPATSSTPMGYMDITGTVHPYVEA DQSDPYLRWLVLGTAGQDMYRERSYML VNFKATKRFGRHLSLSFFADRVFYVAPDY EVNGFIVRRTFSPYFGMEIGLKI
10 15	Protína_de unión a_ATP-de división_c elular_Fts E	P0A9R7	MLIDFKKVNIYQDERLILKDIDFQATEGE FIYLIGRVGSGKSSLLKTFYGELDIDQED AEKAEVLGESVLDIKQKRIPALRRQMGI I FQDFQLLHDRSVAKNLKFVLQATGWKDKE KIKQRIKEVLEQVGMIDKAAKMPSELSSG EQQRIAIARAFLNNPKIILADEPTGNLDP ETASNIVSILKDTCKNGTTVIMSTHNINL LSQFPGKVYRCMEQALVPVTNEAQTKDLE EDSTSVEPLIEPVLEEEEAQAEDSKE
20 25 30	Transporta dor_de dipéptidos /tripéptid os	P0C2U3	MFENQPKALYALALANTGERFGYYTMIAV FALFLRANFGLEPGTAGLIYSIFLGLVYF LPLIGGIMADKFGYGKMTIGIIVMFAGY LFLSVPLGGGTVAFGAMLAALLLISFGTG LFKGNLQVMVGNLYDTPELASKRDSAFSI FYMAINIGALFAPTA AVKIKEWAETSLGY AGNDAYHFSFAVACVSLIVSMGIYYAFRS TFKHVEGGTKKTEKAAAAAVEELTPQQTK ERIVALCLVFAVVIFFWMAFHQNGLTITY FADEFVSPTSTGVSMAFDVVNLVMIVFI VYSIMALFQSKTTKAKGIACAVILAAIAV LAYKYMNVNGQVEVSAPIFQQFNPFYVVA LTPISMAIFGSLAAKGKEPSAPRKIAYGM IVAGCAYLLMVLASQGLLTPHEQKLAKAA GETVPFASANWLGITYLVLTFGELLSPM

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			GISFVSKVAPPKYKGAMMGWFVATAIGN ILVSVGGYLWGDLSLTVVWTVFIVLCLVS ASFMFLLMMKRLEKVA
10			MKKILIFVAGLCMSLAASAQIQRPKLTVG LVVDQMRWDYLYYYYNEYGTDGLRRLVDN GFSFENTHINYAPTMTAIGHSSVYTGSPV AITGIAGNYFFQDDKNVYCCEDPNVKS SDSKEGQMSPHRLLASTIGDELQISNDFR SKVIGVALKDRASILPAGHAADAAYWWD SAGHFVTSTFYTDHLPQWVIDFNEKNHTA PNFNIKTSTQGVMTTFKMAEAALKNENLG 15 38 ATPasa_de transport de calcio Q47910 KGKETDMLAVSISSTDAIGHVYSTRGKEN HDVYMQLDKDLAHFLKTLDEQVGKGNLYL FLTADHGAAHNYNYMKEHRIPAGGWDYRQ SVKDLNGYLQGKFGIAPVMAEDDYQFFLN 20 DSLIAASGLKKQIIDESVEYLKKDPRYL YVFDEERISEVTMPQWIKERMINGYFRGR SGEIGVVTRPQVFGAKDSPTYKGTQHGQP FPYDTHIPFLLYGWNVKGATTQQTYIVD IAPTVCAMLHIQMPNGCIGTARNMALGN
25			MDRQVFQTDNRQRWNRFKWTLRLVITIAI LLGVVVFVAMFALEGSPQMPFRHDYRSVVS ASEPLLKDNKRAEVYKSFRDFFKEQKMHS NYAKVAARQHRFVGHTDNVTQKYIKEWTD PRMGIRSAWYVNWDKHAYISLKNLNLN MVLPEWYFINPKTDRIEARIDQRAKLMR 30 RAHIPVLPMLTNNYNSAFRPEAIGRIMRD STKRMGMINELVAACKHNGFAGINLDLEE LNINDNALLVTLVKDFARVFNGLYVTQ
	Poli-beta- 1.6-N- acetil-D- glucosamin a_sintasa	Q5HKQ0	

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			AVAPFNEDYDMQELAKYDDYLFLMAYDEY NAGSQAGPVSSQRWVEKATDWAAKNVPND KIVLGMATYGYNWAQQGGTTMSFDQTMA TALNAGAKVNFNDDTYNLNFSYQDEDDGT LHQVFFPDVTTFNIMRFGATYHLAGFGL WRLGTEDSRIWKYYGKDLSWESAARMPAIA
10			KIMQLSGTDDVNFVGSGEVLNVTSEPHAG RIGIVLDKDNQLIIIEERYLSLPATYTVQR LGKCKEKQLVLTFFDDGPDSRWTPKVLISIL KHYKVPAAFFMVGLQIEKNIPIVKDVFNQ GCTIGNHTFTHHNMIENSRRSF AELKLT
15			RMLIESITGQSTILFRAPYNADADPTDHE EIWPMIIASRRNYLFVGESIDPNDWQQGV TADQIYKRVLDGVHQEYGHIIILLHDAGGD TREPTVTALPRIIETLQREGYQFISLEKY LGMSRQTLMPPIKKGKEYYAMQANLSLAE
20			LIYHISDFLTALFLVFLVLGFMRLVFMVYV LMIREKRAENRRNYAPIDPLTAPAVSIIV PAYNEEVNIVRTISNLKEQDYPSLKIYLV DDGSKDNTLQRVREVFENDDKVVIISKKN GGKASALNYGIAACSTDYIVCVDADTQLY
25			KDAVSKLMKHFIADKTGKLGAVAGNVKVG NQRNMLTYWQAIEYTTSQNFD RMAYSININ AITVIPGAIGA FRKDVLEAVGGFTTDTLA EDCDLTMSINEHGYLIENENYAVAMTEAP ESLRQFIKQRIRWCFGVMQTFWKHRASLF
30			APSKGGFGMWAMPNMLIFQYIIPTFSPIA DVLMLFGLFSGNASQIFIYYLIFLLVDAS VSIMAYIFEHESLWVLLWIIPQRFFYRWI

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			MYVVLFKSYLKAIKGELQTWGVLRKRTGHV KGAQTIS
10 15 20	Subunidad_ beta_de la ATP_sintas a, específica _de iones_de sodio	P29707	MSQINGRISQIIGPVIDVYFDTKGENPEK VLPNIYDALRVKKADGQDLIIIEVQQQIGE DTVRCVAMDNTDGLQRGLEVVP TGSPIVM PAGEQIKGRMMNVIGQPIDGMSALQMEGA YPIHREAPKFEDLSTHKEMLQTGIKVIDL LEPYMKGGKIGLFGGAGVGKTVLIMELIN NIAKGHNGYSVFAGVGERTREGNDLIRDM LESGVIRYGEKFRKAMDEGKWDLSLVDSE ELQKSQATLVYGMNEPPGARASVALSGL TVAEEFRDHGGKNGEAADIMFFIDNIFRF TQAGSEVSALLGRMPSAVGYP TLA SEMG AMQERITSTKHGSITSVQAVYVPADDLTD PAPATTFTHLDATTELSRKITELGIYPAV DPLGSTSRILDPLIVGKEHYDCAQRVKQL LQKYNELQDIIAILGMDELSDDD KL VVNR ARRVQRFLSQPFTVAEQFTGVKGVMVPIE ETIKGFNAILNGEVDDLPEQAFLNVGTIE DVKEKAKQLLEATKA
25 30	Clúster: Proteína no caracteriz ada	G6AGX5	MNPIYKIITSILFCVLSINTMAQDLTGHV TSKADDKPIAYATVTLKENRLYAFTDEKG NYTIKNVPKGKYTVVFSCMGYASQTVVVM VNAGGATQNVRLAEDNLQLDEVQVVAHRK KDEITTSYTIDRKTLDNQQIMTLSDIAQL LPGGKSVNPSLMNDSKLT LRS GTLERGNA SFGTAVEVDGIRLSNNAAMGETAGVSTRS VSASNIESVEVVP G IASVEYGDLTNGVVK VKTRRGSSPFIVEGSINQHTRQIALHKGV

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			DLGGNVGLLNFSIEHARSFLDAASPYTAY QRNVLSLRYMNVFMKKSPLTLEVGLNGS IGGYNSKADPDRSLDDYNKVKDNNVGNI HLGWLLNKRWITNVDLTAAFTYADRLSES YTNESSNATQPYIHTLTEGYNIAEDYDRN PSANIILGPTGYWYLRGFNDSKPLNYSLK 10 MKANWSKAFGKFRNRLLVGGEWTSSMNRG RGTYADMRYPAPSWREYRYDALPSLNIA IYAEDKLSMDVNERQNAELTAGIRETITS IPGSEYGSVGSFSPRMNARYVFRFGQNSW LNSMTLHAGWGRSVKIPSFQVLYPSPSYR 15 DMLAFASTSDADNRSYYAYTYPSMARYN ANLKWQRADQWDLGVEWRTKIADVLSLFF RSKVSNPYMATDVYTPFTYKYTSPAMLQR SGIAVADRRFSIDPQTGIVTVSDASGVKS PVTLGYEERNTYVTNTRYVNADALQRYGL 20 EWIVDFKQIKTLRTQVRLDGKYYHYKAQD ETLFADVPGVGLNTRQSDGRLYQYVGYYRG GAATTTNYTANASASNGSVSGQVDLNATI TTHIPKIRLIVALRLESSLYAFSRATSSR GYVVSSGNEYFGVPYDDKTENQTVIVYPE 25 YYSTWDAPDVLIPFAEKL RWAETNDRGLF NDLAQLVVRTNYPYTLNPNRLSAYWSANL SVTKEIGRHVSVSFYANNFFNTLSQVHST QTGLETSLFGSGYVPSFYIYGLSLRLKI

30 En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* es una cepa de bacterias *Prevotella* libre o sustancialmente libre de una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,

10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más) proteínas enumeradas en la Tabla 2 y/o uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o más) genes que codifican las proteínas enumeradas en la Tabla 2. En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* está libre de todas las proteínas enumeradas en la Tabla 2 y/o de todos los genes que codifican las proteínas enumeradas en la Tabla 2.

Tabla 2: Otras proteínas *Prevotella*

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
42	UDP-Gal: alfa-D- GlcNAc- difosfoun ol	Q03084	MERIDISVLMAVYKKDNPAFLRESLESIF SQTVEAAEVVLLLEDGPLTDALYDVIKSYE AIYSTLKVVSYYPENRGLGKTLNDGLLLCK YNLVARMDADDICKPNRLEMEYNWLKSHE DYDVIGSWVDEFTDNKTRVKSIRKVPEAY DEIKNYAQYRCPINHPTAMYRKA AVLAVG GYLTEYFPEDYFLWLRMLNNGSKFYNIQE SLLWFRYSEETVAKRGWAYACDEVRI LV RMLKMGYIPFHVFCQSVVIRFTTRVMPLP IRQRLYNLIRKT
43	Subunidad _beta_de la ATP_sinta sa	A1B8P0	MSQINGRISQIIGPVIDVYFDTKGENPEK VLPKIHDA LRVKRANGQDLII EVQQHIGE DTVRCVAMDNTDGLQRNLEVVP TGSPIVM PAGDQIKGRMMNVIGQPIDGMEALSMEGA YPIHREAPKFEDLSTHKEM LQTGIKVIDL LEPYMKGKIGLFGGAGVGKTVLIMELIN NIAKGHNGYSVFAGVGERTREGNDLIRDM LESGVIRYGEKFRKAMDEGKWDLSLVDQE ELQKSQATLVYGMNEPPGARASVALSGL

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			TVAEEFRDHDGGKNGEAAADIMFFIDNIFRF TQAGSEVSALLGRMPSAVGYPPTLASEMG TMQERITSTKHGSITSVQAVYVPADDLTD PAPATTFTHLDATTELSRKITELGIYPAV DPLGSTSRILDPLIVGKDHYECAQRVKQL LQHYNELQDIIAILGMDDELSDKLVVNR ARRVQRFLSQPFTVAEQFTGVKGVMVPIE ETIKGFNAILNGEVDDLPEQAFLNVGTIE DVKEKAKRLLEATK
10			
15	Protina_d e unión a_ATP-de división_ celular_F tsE	005779	MPIGNGQKYQLTIINHTEIIMLIDYKKVN IYQDERLILKDVDVFAETGEFIYLIIGRVG SGKSSLLKTIYGELDIDSEDAEKAVVLDE SMPNIKRSRIPALRKQMGIIFQDFQLLHD RSVAKNLKFVLQATGWTSKQKIERRIEEV LAQVGMTDKKNKMPSELSGGEQQORIAIAR ALLNTPKIIIIADEPTGNLDPETAANIVSI LKDSCQAGTTVIMSTHNINLIDQFPKGVY RCHEGELHQLTDKKEVSELAETAPVETI DEPEQND
20			
25	Proteína_ permeasa_ del sistema_d e transport e_de la hemina_Hm uU	Q56992	MKRNILLFICLATSILLFLGLNLTGTSVQ IPFADILDILCGRFIGKESWEYIILENRL PQTLTAILCGASLSVCGMLQTAFRNPLA GPDVFGISSGAGLGVALVMLLLGGTVSTS IFTVSGFLAILTAAFVGAIAVTALILFLS TLVRNSVLLLVGIMVGYVSSSAVSLNLF FASEEGVKSVMVWGMGNFGAVSMNHIPLF SILCLIGIIASFLLVKPLNILLGPPQYAE SLGISTRQIRNILLVVVGLLTAITTAFCG PISFIGLAIPHIARLLFRTENHQILLPGI
30			

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			VLSGAAIALLCNFICYLPGESGIIPLNAV TPLIGAPIIIYVIIQRR
10	Transportador de _Hexurona to	034456	MKKYYPWVLVALLWFVALLNYMDRQMLST MQEAMKVDIAELNHAEAFGALMAVFLWIY GIVSPFAGIIADRVNRKWLTVGSIFVWSA VTYLMGYAESFDQLYWLRAFMGISEALYI PAALSLIADWHEGKSRSLAIGIHMTGLYV GQAVGGFGATLAAMFSWHAAFHWFGIIGI VYSLVLLLFLKENPKHGQKSVLQGETKPS KNPFRGLSIVFSTWAFWVILFYFAVPSLP GWATKNWLPTLFANSLDIPMSSAGPMSTI TIAVSSFIGVIMGGVISDRWVQRNLGRV Y TSAIGLGLTVPALMLLGFGHSLVSVVGA GLCFGIGYGMFDANNMPILCQFIS SKYRS TAYGIMNMTGVFAGAAVTQVLGKWDGDN 20 LGNGFAILGGIVVLALVLQLSCLKPTTDN ME
25	Enzima_de ramificac ión_de 1.4-alfa- glucano_G lgB	P9WN45	MVTKKTTTKKAPVKKTSAKTTKVKEPSHI GLVKNDAYLAPYEDAIRGRHEHALWKMNQ LTQNGKLTLSDFANGHNYGLHQADGWV FREWAPNATEIYLVGDFNGWNEQEAYQCH RIEGTGNWELTLPHDAMQHGGYYKMRVHW EGGEGERIPAWTQRVVQDEASKIFSAQVW APAEPYVWEKKTFKPQTSPLLIYECHIGM AQDEEKVGTYNEFREKVLPRIIKDGYNAI QIMAIQEHPPYGSFGYHVSSFFAASSRFG TPEELKALIDEAHKNGIAVIMDIVHSHAV KNEVEGLGNLAGDPNQYFYFGERHEHPAW 30 DSLCFDYGKDEV LHFLLSNCKYWLEEYHF

5

10

15

20

25

30

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
			DGFRFDGVTSMLEYSHGLGEAFCNYADYF NGHQDDNAICYLTLANCLIHEVNKNAVTI AAEVSGMPGLAAKFKDGGYGFDYRMAMNI PDYWIKTIKELPDEAWKPSSIFWEIKNRR SDEKTISYCESHDQALVGDKTIIIFRLVDA DMYWHFRKGDETEMTHRGIALHKMIRLAT IAAINGGYLNFMGNEFGHPEWIDFPREGN GWSHKYARRQWNLVDNEELCYHLLGDFDR KMLEVITSEKKFNETPIQEIWHNDGDQIL AFSRGELVFVFNFSPPSHSYSDYGFLVPEG SYNVVLNTDAREFGGFGFADDTVEHFTNS DPLYEKDHHKWLKLYIPARSAVVLRRK
48	Clúster: Proteína de la familia YihY	D9RW24	MKIDIERIKYFLTVGMFMKTEHSSKRRNM LIRQFQKFYLTVKFFFVRDHAASTAQLSF STIMAIVPIASMIFAIANGFGFGQFLEKQ FREMLSAQPEAATWLLKLTQSYLVHAKTG LFIGIGLMIMLYSVFSLIRTVETTFDNIW QVKDSRPISRIVIDYTALMFLVPISIIIL SGLSIYFYSFVENLNGLRFLGTIASFSLR YLVPWAILTLMFIVLYVFMNPAKVKITKT VAPAMIASIAMLCQAVYIHGQIFLTSYN AIYGSFAALPLFMLWILASWYICLFCAEL CYFNQNLLEYECLIDTEDICHNDLLILCA TVLSHICQRFANDQKPQTALQIKTETHIP IRVMTDILYRLKEVNLIENFSPTSDEVT YTPHTDTNNITVGEMIARLESTPASDFAL LGFSPKKAWNHDIDRVGSIREIYLNELK SINIKELISYSEN
49	Proteína_	P19579	MMKRPSIARVVKVIICLLTPILLSFSGIG

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	de la biosíntesis_de la cápsula_C apA		DNDIDKKKSTSKEVDDTLRIVITGDLLLD RGVRQKIDMAGVDALFSPTIDSLFHSSNY VIANLECPVTKIRERVFKRFIFRGEPEWL PTLRRHGITHLNLANNHSIDQGRNGLLDT QEQIKKAGMIPIGAGKNMEEAAEPVLIST SPRHVWVISSLRLPLENFLYLPOKPCVSQ ESIDSLIMRVKRLRATDKNCYILLILHWG WEHHFRATPQQREDAHKLIDAGADAIVGH HSHTLQTIETYRGKPIYYGIGNFIFDQRK PMNSRACLVELSITAEEKKAKALPIEIKN CTPYLSK
15	50	B5ZA76	MILLSFDTEEFDVPREHGVDFSLEEGMKV SIEGTNRILDILKANNVCATFFCTGNFAE LAPEVMERIKNEGHEVACHGVDHWQPKPE DVFRSKEIIERTVGKVVAGYRQPRMFPVS DEDIEKAGYLYNSSLNPAFIPGRYMHLLT SRTWFMQGKVMQIPASVSPHLRIPLFWLS MHNFPWFYLRRLVRQVLRHDGYFVTFHP WEFYDLKSHPEFKMPFIIKNHSGHELEQR LDRFIKAMKADKQEFITYVDFVNRQKK
25	51	P0AC47	MAKNISFTIKYWKQNGPQDQGHFDTHMK NIPDDTSFLEMLDILNEELIAAGDEPFVF DHDCREGICGMCSLYINGTPHGKTERGAT TCQLYMRRFNDGDVITVEPWRSAGFPVIK DCMVDRTAFDKIIQAGGYTTIRTGQAQDA NAILISKDNADEAMDCATCIGCGACVAAC KNGSAMLVSSKVSQALALLPQGKPEAAKR AKAMVAKMDEVGFGNCTNTRACEAVCPKN EKIANIARLNREFIKAKFAD

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5 10 15	52 Serina/tr eonina- proteína_ quinasa_P knH	P9WI71	MSENKLSTNEQAQTADAPVKASYTEYKVI PSQGYCMIVKCRKGDQTVVLKTLKEEYRE RVLLRNALKREFKQCQRLNHSGIVRYQGL VEVDGYGLCIEEEYVEGRTLQAYLKENHT DDEKIAIINQIADALRYAHQQGVIHRNLK PSNVLVTTQGDYVKLIDFSVLSPEDVKPT AETTRFMAPEMKDETLTADATADIYSLGT IMKVMGLTLAYSEVIKRCFAFKRSDRYSN VDELLADLNNEGSSFSMPKIGKGTVVGLL IIAVVIGIGALLYNYGGALIDQVGKIDVS SVFSSDAETAPEDTVKVNTAEQSDSLSTE AEAPAIGKLAFMNRMKPALYKDLDNIFEK NSADKAKLTKAIKTYRGLIQANDTLDNE QRAEVD RVFGDYVKQKKAALN
20 25 30	53 Proteasa_ del procesami ento_carb oxi- terminal_ CtpA	034666	MRKYICLLLFYLF TFLPLSAQQGNDSPLR KLQLAEMAIKNFYVDSVNEQKLVEDGIRG MLEKLDPHSTYTDKETKAMNEPLQGD FE GIGVQFNMIEDTLVVIQPVVNGPSQKVG I LAGDRIVSVNDSTIAGVKMARIDIMKMLR GKKGTKVKLGVVRRGVKGVLTFFVVTRAKI PVHTINASYMIRPNVGYIRIESFGMKTHD EFMSAVDSLKKKG MKTLLLDLQDNGGGYL QSAVQISNEFLKNNDMIVYTEGRARRQN FKAIGNGR LQDVKVYVLVNELSASAAEIV TGAIQDNDRGTVVGRRTFGKGLVQRPFDL PDGSMIRLTIAHYYTPSGRCIQKPYTKGD LKDYEMDIEKRFKHGELTNPD SIQFSDSL KYYTIRKHRVVYGGGGIMPDNFVPLD TTK FTRYHRMLAAKSIIINAYLKYADANRQAL

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			KAQYSSFDAFNKGYVVPQSLLDEIVAEGK KEKIEPKDAAELKATLPNIALQIKALTAR DIWDMNEYFRVWNTQSDIVNKAVALATGK
10 15	Clúster: Proteína no caracteri- zada	D9RRG3	MKLTEQRSSMLHGVLLITLFAAAFYIGD MGWVKALSLSPMVVGIIILGMLYANSLRNN LPDTWVPGIAFCGKRVLRFGIILYGFRLT FQDVVAVGFPAAIIVDAIIVSGTILLGVLV GRLLKMDRSIALLTACGSGICGAAAVLG DGAIRPKPYKTAVAVATVVIFGTLSMFLY PILYRAGIFDLSPDAMGIFAGSTIHEVAH VVGAGNAMGAAVSNSAIIVKMIRVMMLVP VLLVIAFFVAKNVAERDDEAGGSRKINIP WFAILFLVVIGFNSLNLLPKELVDFINTL DTFLLTMAMSALGAETSIDKFKKAGFKPF LLAAILWCWLIGGGYCLAKYLPVVLGVAC
20 25 30	Clúster: Proteína del dominio de tipo B de la proteína Cna	X6Q2J4	MNKQFLAALWLSPLGLYAHKANGIGAVT WKNEAPKERMIRGIDEDKTHQRFTLSGYV KDRNGEPLINATIYDLTTRQGTMTNAYGH FSLTLGEGQHEIRCSYVGKTLIETIDLS ANQNHDIILQNEAQLDEVVTTDLNSPLL KTQTGKLSLSQKDIKTEYALLSSPDVIKT LQRTSGVADGMELASGLYVHGGNGDENLF LLDGTPLYHTNHSGLFSSFNADVVKNV FYKSGFPARYGGRSSVIDVRTADGDLYK THGSYRIGLLDGAFHIGGPIRKGKTSYNF GLRRSWMDLLTRPAFAIMNHKSDNEDKLS MSYFFHDLNFKLTNIFNERSRMSLSVYSG EDRLDAKDEWHSNNSSGYNDVDIYVNRFH WGNFNAALDWNYYQFSPKLFANFTAVYTHN

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			RSTVSSSDEWRFTRPGEKEQLTLTSHGYR SSIDDIGYRAAFDFRPSPRHHIRFGQDYT YHRFQPQTYNRFDNYQTNSEAKADTIATH SYNKNVAHQLTIFYAEDEMTLNEKWSLNGG VNADVFIHSGKTFATLSPRLSMKFQPTER LSLKASYTLMSQFVHKIANSFLDLPTDYW 10 VPTTARLHPMRWQVAAGAYMKPNKHLL SLEAYYKRSSHILQYSSWAGLEPPAANWD YVMMEGDGRSYGVELDADYNVSNLTLHGS YTLSWTQKKFDDFYDGWYYDKFDNRHKLT LTGRWNITKKIAAFAAWTFRTGNRMTIPT 15 QYIGLPDVPAQEQQGLTFNSSDDNTLNFA YEKPNNVILPAYHRLDIGFDFHHTTKKGH ERIWNLSFYNAAYCHLNSLWVRVKIDSNNQ MKIRNIAFIPVIPSFSTYTFKF
20			MSKQVFQTDQRWSYFKWTLRVILTILS LLGIVFLAMFALEGSPQMPFRHDYRNAVT AASPYTKDNKTAKLYKSFRDFFKEKKMHN NYAKATIKKQRFIGKADSVTQKYFREWDD PRIGVRSAWYVNWDKHAYISLKNNIKHLN MVLPEWFFINPKTDKVEYRIDKQALRLMR 25 RTGIPVLPMLTNNYNSDFHPEAIGRIMRD EKKRMALINEMVRTCRHYGFAGINLDLEE LNIQDNDLLVELLKDFSRVFNGLYVTQ AVAPFNEDYNMQELAKYNDYFLMAYDEH NIESQPGAVSSQRWVEKATDWAAKNVPND 30 KIVLGMATYGYDWANGEGGTTVSFDQTMA IAQDADAKVKFDDDTYNVNFSTYQNTDDGK IHHVFFTDAAATTFNIMRFGAEYHLAGYGL

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			WRLGTEDKRIWRFYGKMSWENVARMSVA KLMQLNGTDDVNFVGSGEVLEVTTEPHPG DISIRIDKDNRLISEEYYRALPSTYTIQR LGKCKDKQLVITFDDGPD SRWTPTVLSTL KKYNVPAAFFMVGLQMEKNLPLVKQVYED GHTIGNHTFTHHNMIENS DRRSYAELKLT 10 RMLIESVTGHSTILFRAPYNADADPTEHE EIWPMIVASRRNYLFVGESIDPNWEPNV TSDQIYQRVIDGVHHEDGHIILLHDAGGS SRKPTLDALPRIETLQHEGYQFISLEQY LGMGKQTLMP EINKGKAYYAMQTNLWLAE 15 MIYHVSDFLTALFLVFLALGMMRLIFMYV LMIREKRAENRRNYAPIDAATAPAVSIIV PGYNEEVNIVRTITTLKQQDYPNLHIYFV DDGSKDHTLERVHEAFDND DTVTILAKKN GGKASALNYGIAACRSEYVVCIDADTQLK 20 NDAVSRLMKHFIADTEKRVGAVAGNVKVG NQRNMLTYWQAIEYTSSQN FDRMAYSININ AITVVPGAIGA FRKEVIEAVGGFTTDTLA EDCDLTMSINEHGYIIENENY AVALTEAP ETLRQFVKQRIRWCFGVMQAFWKHRSSLF 25 APSKKGFGWLWAMPNMLIFQYIIPTFSPLA DVLMLIGLFTGNALQIFFY YLIFLVIDAS VSIMAYIFEGERLWVLLWVIPQRFFYRWI MYVVLFSY LKAIKGELQTWGV LKRTGHV KG
30	Proteína_ de división_	034876	MAKKRNKARSRHSLQVV TLCISTAMV LML IGIVVLTGFTSRNLSS YVKENLTITMI LQ PDMNTEESAALCERIR TLHYINSLNFISK

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	celular_F tsX		EQALKDGTKELGANPAEFAGENPFTGEIE VQLKANYANND S I R N I V Q Q L R T Y R G V S D I T Y P Q S L V E S V N Q T L G K I S L V L L V I A V L L T I I S F S L I N N T I R L S I Y A H R F S I H T M K L V G G S W S F I R A P F L R R A V L E G L V S A L L A I A V L G I G I C L L Y E K E P E I T K L L S W D A L I I T A I V 10 M L A F G V I I A T F C A W L S V N K F L R M K A G D L Y K I
15	UDP-2.3- diacilglu cosamina_ hidrolasa	P44046	MKNIYFLSDAHLGSLAIDHRRTHERRLVR FLDSIKHKAAAVYLLGDMFDFWNEYKYVV PKGFTRFLGKISELTDMGVEVHFFTGNHD LWTYGYLEKECGVILHRKPITTEIYDKVF YLAHGDGLGDPDPMFRFLRKVFHNRFQQR LLNFFHPWWGMQLGLNWAKRSLKRKDGK EVPYLGEDKEYLVQYTKEYMSTHKDIDYY IYGHRHIELDLTLSRKARLLILGDWIWQF 20 T Y A V F D G E H M F L E E Y V E G E S K P
25	Poli- beta-1.6- N-acetil- D- glucosami na_sintas a	P75905	MVGLDVLCYFIHAKGREKECYFERIIYQI TCHSRTKCYLCNIMKYSIIVPVFNRPDEV EELLESLLSQEEKDFEVVIVEDGSQIPCK EVCDKYADKLDLHYYSKENS G P G Q S R N Y G A E R A K G E Y L L I L D S D V V L P K G Y I C A V S E E L K R E P A D A F G G P D C A H E S F T D T Q K A I S Y S M T S F F T T G G I R G G K K L D K F Y P R S F N M G I R R D V Y Q E L G G F S K M R F G E D I D F S I R I F K A G K R C R L F P E A W V W H K R R T D F R K F W K Q V Y N S G I A R I N L Y K K Y P E S L K L V H L L P M V F T V G T A L L V L M I L F G L F L Q L F P I I N V F G S V F I M 30 M G L M P L V L Y S V I I C V D S T M Q N N S L N I G L L

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			SIEAAFIQLTGYGCGFISAWWKRCVCGMD EFAAYEKNFYK
10	60	Enolasa	Q8DTS9
15			MKIEKVHAREIMDSRGNPTVEVEVTLENG VMGRASVPSGASTGENEALELRDGDKNRF LGKGVLKAVENVNNLIAPALKGDCVLNQR AIDYKMLELDGTPTKSKLGANAILGVSLA VAQAAAKALNIPLYRYIGGANTYVLPVPM MNIINGGAHSDAPIAFQEFMIRPVGAPSE KEGIRMGAEVFHALAKLLKKRGLSTAVGD EGGFAPKFDGIEDALDSIIQAIKDAGYEP GKDVKIAMDCAASEFAVCEDGKWFYDYRQ LKNMGPKDPNGKKLSADEQIAYLEHLITK YPIDSIEDGLDENDWENWVKLTSAIGDRC QLVGDDLFVTNVKFLEKGIKMGAANSILI KVNQIGSLTETLEAIEMAHRHGYYTTVTSH RSGETEDTTIADIATNSGQIKTGSMR TDRMAKYNQLIRIEEELGACAKYGYAKLK
20	61	Proteína_ de eflujo_de la membrana_ externa_B epC	Q8G0Y6
25			MKKLFTIAMLLGVTLGIHAQEVYSLQKCR ELALQNNRQLKVSRTVDVAENTRKA AKT KYLPRVDALAGYQHFSREISLLSDDQKNA FSNLGTNTFGQLGGQIGQNLTSLAQQGIL SPQMAQQLGQLFSNVATPLTQVGNNIGQS INDAFRSNTKNVYAGGIVVNQPIYMGGAI KAANDMAAIGEQVAQNNISLKRQLVLYGV DNAYWLAI SLKKKEALAIRYRDLAQKLNE DVKKMIREGVATRADGLKVEVAVNTADMQ IARIQSGVSLAKMALCELCGLELNGDIPL SDEGDADLPPTPSTQFDNYTVSSD TTGL NEARPELRLLQNAVDLSIQNTKLIRSLYM
30			

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5			PHVLLTAGYSVSNPNLFNGFQKRFTDLWN IGITVQVPVWNWGENKYKVRASKTATTIA QLEMDDVRKKIDLEIEQNRLRLKDANKQL ATSQKNMAAAEENLRCANVGFKEGVMTVT EVMAAQTAWQTSRMAI IDAEISVKLAQTG LQKALGGL
10			MKRTFVTKMVKPIEENSLFFMFMLLVGAF TNVSHRNVFGYIELIADVYIICFLLSLCQ RTIRQGLVIMLSSVIYVVAIIDTCCKTLF DTPITPTMLLLAQETTGREATEFFLQYLN LKLFFSAADIILFLAFCHIVMAVKKMKFS 15 TSYLKQPFVAFVLMFTIFVGMALSIYDKV QLYTVKNLSGLEVAVTNGFAHLYHPVERI VYGLYSNHLLIAKQVDGVI MANQQIKVDSC SFTSPTIVLVIGESANRHHSQLYGYPLPT TPYQLAMKNGKDSLAVFTNVVSPWNLT SK 20 VFKQIFSLQSVDEKGDWSKYVLFPAVFKK AGYHVSFLSNQFPYGINYTPDWTNNLVGG FFLNHPQLNKQMF DYRNVTIHNYDEDDL N DYKEIISYKKPQLIIFHLLGQHFQYSLRC KSNMKKFGIKDYKRMDLTDKEKQTIADYD 25 NATLYNDFVLNKIVEQFRNKDAIIVYLS D HGEDCYGKDVNMAGRLTEVEQINLKKYHE EFEIPFWIWCSPIYKQRHRKIFTETLMAR NNKFMTDDLPHLLLYLAGIKTKDYCEERN VISPSFNNRRRLVLKTIDYDKALYQ
30	62	Fosfoetan olamina_t ransferas a_CptA Q7CPC0	
	63	Permeasa_ B_de dipéptido P36837	MFKNHPKGLLQAAFSNMGERFGYYIMNAV LALFLCSKFGLSDETSGLIASLFLAAIYV MSLVGGVIADRTQNYQRTIESGLVVMALG

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	s_y_tripé ptidos		YVALSIPVLATPENNSYLLAFTIFALVLI AVGNGLFKGNLQAIVGQMYDDFETEAAKV SPERLKWAQGQRDAGFQIFYVFINLGALA APFIAPVLRSSWWLGRNGLTYDAALPQLCH KYINGTIGDNLGNLQELATKVGGENSADLA SFCPHYLDVFNTGVHYSFIASVVTMLISL 10 IIFMSSKKLFPMPGKKEQIVNVEYTDEEK ASMAKEIKQRMALFAVLGISVFFWFSFH QNGQSLSFARDFVNTDSVAPEIWQAVNP FFVISLTPLIMWVFAYFTKKGKPISTPRK IAYGMGIAGFAYLFLMGFSLVHNYPSEEQ 15 FTSLEPAVRATMKAGPMILITYFFLTVA ELFISPLGLSFVSKVAPKNLQGLCQGLWL GATAVGNGFLWIGPLMYNKWSIWTCWLVF AIVCFISMVVMFGMVKWLERVTKS
20	Proteína_ 2_de transport e _de_C4- dicarboxi lato	Q9I4F5	MQKKIKIGLLPRVIIAILLGLFLGYLPD PAVRVFLTFNSIFSQFLGFMIPLIIGLV TPAIAGIGKGAGKLLLATVAIAYVDTIVA GGLSYGTGTWLFPSMIASSTGGAIPHIDKA TELTPYFTINIPAMVDVMSSLVFSFIAGL GIAYGGLRTMENLFNEFKTVIEKVIEKAI 25 IPLLPYIFGVFLSMTHNGQARQVLLVFS QIIIVILVLHVLILIIYEFCIAGAIVKHNP FRLLWNMLPAYLTALGTSSSAATIPVTLK QTVKNGVSEEVAGFVVPLCATIHLSGSAM KITACALTICMLTDLPDGLFIYFILML AIIMVAAPGVPGGAIMAALAPLSSILGFN 30 EEAQALMIALYIAMDSFGTACNVTGDGAI ALAVNKFFGKKKETSILS

	Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	65	Proteína_ de la membrana_ interna_Y nbA	P76090	MISVYSIKPQFQRVLTPILELLHRAKVTA NQITLWACVLSLVIGILFWFAGDVGWLY LCLPVGLLIRMALNALDGMARRYNQITR KGELLNEVGDVVSDTIIYFPLLKYHPESL YFIVAFIALSIINEYAGVMGKVLSAERRY DGPMGKSDRAFVLGLYGVCVCLFGINLSGY SVYIFGVIDLLLVLSTWIRIKKTLKVTRN SQTPE
10	66	2',3'- nucleótido cíclico	P08331	MKLSTILLSIMLGLSSSTMAQQKDVTIKL IETTDVHGSFFPYDFITRKPKSGSMARVY TLVEELRKKDGKDNVYLLDNGDILQGQPI SYYYNYVAPEKTNIAASVLNYMGYDVATV GNHDIETGHKVYDKWFKELKFPILGANII DTKTNPYILPYITIKKNGIKVCVIGML TPAIPNWLKESIWSGLRFEEMVSCAKRTM AEVKTQEKPDVIVGLFHSGWDGGIKTPEY DEDASKKVAKEVPGFDIVFFGHDHTPHSS IEKNIVGKDVICLDPANNAQRVAIATLTL RPKTVKGKRQYTVTKATGELVDVKELKAD DAFIQHFQPEIDAVKAWSQVIGRFENTI YSKDSYFGNSAFNDLILNLELEITKADIA FNAPLLFNASIKAGPITVADMFNLYKYEN NLCTMRLTGKEIRKHLEMSYDLWCNTMKS PEDHLLLLSSTQND AQRLGFKNFSFNFD S AAGIDYEVDVTKPDGQKVRILRMSNGEPF DENKWYTVAVNSYRANGGELLTKGAGIP RDSLKSRIIWESPKDQRHYLMEEIKKAGV MNPQPNHNWKFI PETWTVPAAARDRKL LFGE

Seq. ID. No.	Nombre	ID de Uniprot	Secuencia de aminoácidos
5	Transportador de Fe (2+) _Fe oB	P33650	MKLSELKTGETGVIVKVS GHGGFRKRIIE
			MGFIKGKTVEVLLNAPLQDPVKYKIMGYE
			VSLRHSEADQIEVLSDVKTHSVGNEEEQE
			DNQLEMDSTTYDSTDKELTPEKQSDAVRR
			KNHTINVALVGNPNCGKTSLFNFASGAHE
			RVGNYSGVTVDAKVGRAEFDGYVFNLVDL
10			PGTYSLSAYSPEELYVRKQLVDKTPDVVI
			NVIDSSNLERNLYLTTLQIDMHIRMVCAL
			NMFDETEQRGDHIDAQKLSELFVPMIPT
			VFTNGRGVKELFRQIIAVYEGKEDESLQF
			RHIHINHGHEIENGIKEMQEHLKKYPELC
15			HRYSTRYLAIKLLEHDKDVEQLVSPLGDS
			IEIFNHRDTAAARVKEETGNDSETAIMDA
			KYGFINGALKEANFSTGDKKDTYQTTHVI
			DHVLTNKYFGFPIFFLVLLVMFTATFVIG
20			QYPMDWIEAGVGWLGEFISKNPAGPVKD
			MIVDGIIGGVGAVIVFLPQILILYFFISY
			MEDCGYMSRAAFIMDRLMHKMGLHGKSFI
			PLIMGFGCNVPAVMATRTIESRRSRLITM
			LILPLMSCSARLPIYVMITGSFFALKYRS
25			LAMLSLYIIIGVLMAVAMSRLFSAFVVKGE
			DTPFVMELPPYRFPTWKAIGRHTWEKGKQ
			YLKKMGGIILVASIIVWALGYFPLPDDPN
			MDNQARQEQS YIGRIGKAVEPVFRPQGFN
			WKLDVGLLSGMGAKEIVASTMGVLYSNDG
			SFSDDNGYSSETGKYSKLHNLITKDVATM
30			HHISYEEAEPIATLTAFSFLLFVLLYFPC
			VATIAAIKGETGSWG WALFAAGYTTALAW
			IVSAVVFQVGMLFM

5
10
15
20
25

30 En algunas realizaciones, Las VE de *Prevotella* y las
bacterias *Prevotella* son de una cepa de bacterias
Prevotella que comprende una o más de las proteínas

enumeradas en la Tabla 1 y que están libres o sustancialmente libres de una o más proteínas enumeradas en la Tabla 2. En algunas realizaciones, las VE de *Prevotella* y las bacterias *Prevotella* son de una cepa de bacterias *Prevotella* que comprende todas las proteínas enumeradas en la Tabla 1 y/o todos los genes que codifican las proteínas enumeradas en la Tabla 1 y que están libres de todas las proteínas enumeradas en la Tabla 2 y/o todos los genes que codifican las proteínas enumeradas en la Tabla 2.

En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* de la que se obtienen las VE se modifican para mejorar la producción de VE, para mejorar la administración oral de las VE producidas (por ejemplo, mejorando la resistencia a los ácidos, la mucoadherencia y/o la penetración y/o la resistencia a los ácidos biliares, enzimas digestivas, la resistencia a péptidos antimicrobianos y/o la neutralización de anticuerpos), para dirigirlas a los tipos de células deseadas (por ejemplo, células M, células caliciformes, enterocitos, células dendríticas, macrófagos), para mejorar su efecto inmunomodulador y/o terapéutico de las VE producidas (por ejemplo, solas o en combinación con otro agente terapéutico), y/o para potenciar la activación o supresión inmune por las VE producidas (por ejemplo, a través de la producción modificada de polisacáridos, pili, fimbrias, adhesinas). En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente descritas en el presente documento se modifican para mejorar la fabricación de bacterias y/o VE de *Prevotella* (por ejemplo, mayor tolerancia al oxígeno, estabilidad, tolerancia mejorada a la congelación-descongelación, tiempos de generación más cortos). Por ejemplo, en algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella*

modificada genéticamente descritas incluyen bacterias que albergan uno o más cambios genéticos, siendo dicho cambio una inserción, delección, translocación o sustitución, o cualquier combinación de los mismos, de uno o más
5 nucleótidos contenidos en el cromosoma bacteriano o el plásmido endógeno y/o uno o más plásmidos extraños, donde el cambio genético puede dar como resultado la sobreexpresión y/o la infraexpresión de uno o más genes. El microbio o microbios modificados genéticamente se pueden
10 producir usando cualquier técnica conocida en la materia, incluyendo, pero sin limitación, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis por transposón, desactivaciones, inserciones, mutagénesis por reacción en cadena de la polimerasa, mutagénesis química, mutagénesis por luz
15 ultravioleta, transformación (químicamente o por electroporación), transducción de fagos, evolución dirigida, o cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, las VE de *Prevotella* y/o las bacterias *Prevotella* descritas en el presente documento se
20 modifican de tal forma que comprendan, estén vinculadas y/o estén unidos por un resto terapéutico. En algunas realizaciones, el resto terapéutico es un resto específico de cáncer. En algunas realizaciones, el resto específico de cáncer tiene especificidad de unión por una célula
25 cancerosa (por ejemplo, tiene especificidad de unión por un antígeno específico del cáncer). En algunas realizaciones, el resto específico de cáncer comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, el resto específico de cáncer comprende un
30 receptor de células T o un receptor de antígeno quimérico (CAR). En algunas realizaciones, el resto específico de cáncer comprende un ligando para un receptor expresado en

la superficie de una célula cancerosa o un fragmento de unión al receptor de la misma. En algunas realizaciones, el resto específico de cáncer es una proteína de fusión bipartita que tiene dos partes: una primera parte que se une y/o está unida a la bacteria *Prevotella* y una segunda parte que es capaz de unirse a una célula cancerosa (por ejemplo, al tener especificidad de unión por un antígeno específico del cáncer). En algunas realizaciones, la primera parte es un fragmento o una proteína de reconocimiento de peptidoglicano de longitud completa, tal como PGRP. En algunas realizaciones, la primera parte tiene especificidad de unión para la VE de *Prevotella* (por ejemplo, al tener especificidad de unión por un antígeno bacteriano de *Prevotella*). En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda parte comprenden un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, la primera y/o segunda parte comprende un receptor de células T o un receptor de antígeno quimérico (CAR). En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda parte comprende un ligando para un receptor expresado en la superficie de una célula cancerosa o un fragmento de unión al receptor de la misma. En determinadas realizaciones, la coadministración del resto específico de cáncer con las VE de *Prevotella* (en combinación o en administraciones separadas) aumenta la orientación de las VE de *Prevotella* a las células cancerosas.

En algunas realizaciones, las VE de *Prevotella* descritas en el presente documento se modifican de tal forma que comprenden, se unen y/o están unidas por un resto magnético y/o paramagnético (por ejemplo, una perla magnética). En algunas realizaciones, el resto magnético y/o paramagnético está comprendido la bacteria *Prevotella*

y/o está directamente unido a la misma. En algunas realizaciones, el resto magnético y/o paramagnético está unido a un resto de unión a VE que se une a la VE y/o forma parte del mismo. En algunas realizaciones, el resto de unión a VE es un fragmento o una proteína de reconocimiento de peptidoglicano de longitud completa, tal como PGRP. En algunas realizaciones, el resto de unión a VE tiene especificidad de unión para la VE (por ejemplo, al tener especificidad de unión por un antígeno bacteriano de *Prevotella*). En algunas realizaciones, el resto de unión a VE comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, el resto de unión a VE comprende un receptor de célula T o un receptor de antígeno quimérico (CAR). En algunas realizaciones, el resto de unión a VE comprende un ligando para un receptor expresado en la superficie de una célula cancerosa o un fragmento de unión al receptor de la misma. En determinadas realizaciones, la coadministración simultánea del resto magnético y/o paramagnético con las VE (ya sea en conjunto o en administraciones separadas) puede usarse para aumentar la direccionalidad de las VE a los objetivos de cáncer y/o una parte de un sujeto en el que están presentes las células cancerosas.

Producción de VE de *Prevotella*

En determinados aspectos, las VE de *Prevotella* descritas en el presente documento se pueden preparar usando cualquier método conocido en la técnica.

En algunas realizaciones, las VE de *Prevotella* se preparan sin una etapa de purificación de VE. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* que comprenden las VE descritas en el presente documento se destruyen usando un método que deja las VE de bacterias

Prevotella intactas y los componentes bacterianos resultantes, incluidas las VE, se usan en los métodos y composiciones descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* se destruyen usando un antibiótico (por ejemplo, usando un antibiótico descrito en el presente documento). En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* se eliminan utilizando radiación UV.

En algunas realizaciones, las VE descritas en el presente documento se purifican a partir de uno o más componentes bacterianos diferentes. Los métodos para purificar las VE de bacterias son conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, las VE se preparan a partir de cultivos bacterianos utilizando los métodos descritos en S. Bin Park, et al. PLoS ONE. 6(3):e17629 (2011) o G. Norheim, et al. PLoS ONE. 10 (9): e0134353 (2015), cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, las bacterias se cultivan a una alta densidad óptica y luego se centrifugan para sedimentar bacterias (por ejemplo, a 10.000 x g durante 30 min a 4 °C). En algunas realizaciones, los sobrenadantes de cultivo se pasan después a través de un filtro para excluir las células bacterianas intactas (por ejemplo, un filtro de 0.22 µm). En algunas realizaciones, los sobrenadantes filtrados se centrifugan para sedimentar las VE bacterianas (por ejemplo, a 100.000-150.000 x g durante 1-3 horas a 4 °C). En algunas realizaciones, las VE se purifican adicionalmente resuspendiendo los sedimentos de VE resultantes (por ejemplo, en PBS), y aplicando las VE resuspendidas al gradiente de sacarosa (por ejemplo, un 30-60 % de gradiente de sacarosa discontinuo), seguido de centrifugación (por ejemplo, a 200.000 x g durante 20 horas

a 4 °C). Las bandas de VE se pueden recoger, lavar (por ejemplo, con PBS) y centrifugar para sedimentar las VE (por ejemplo, a 150.000 x g durante 3 horas a 4 °C). Las VE purificadas se pueden almacenar, por ejemplo, a -80 °C hasta su uso. En algunas realizaciones, las VE se purifican adicionalmente mediante tratamiento con ADNasa y/o proteinasa K.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, los cultivos de bacterias *Prevotella* descritos en el presente documento se pueden centrifugar a 11.000 x g durante 20-40 minutos a 4 °C para sedimentar bacterias. Los sobrenadantes de cultivo se pueden pasar a través de un filtro de 0.22 µm para excluir las células bacterianas intactas. Los sobrenadantes filtrados se pueden concentrar usando métodos que pueden incluir, pero sin limitación, precipitación en sulfato amónico, ultracentrifugación o filtración. Por ejemplo, para la precipitación en sulfato amónico, se puede añadir lentamente sulfato amónico 1.5-3 M al sobrenadante filtrado, mientras se agita a 4°C. Las precipitaciones pueden incubarse a 4°C durante 8-48 horas y luego centrifugarse a 11.000 x g durante 20-40 minutos a 4°C. Los sedimentos resultantes contienen VE bacterianas de *Prevotella* y otros restos. Usando ultracentrifugación, los sobrenadantes filtrados se pueden centrifugar a 100.000-200.000 x g durante 1-16 horas a 4 °C. El sedimento de esta centrifugación contiene VE de bacterias *Prevotella* y otros residuos. En algunas realizaciones, usando una técnica de filtración, tal como mediante el uso de un filtro de giro Amicon Ultra o mediante filtración de flujo tangencial, los sobrenadantes se pueden filtrar para retener especies de peso molecular > 50 o 100 kDa.

Como alternativa, las VE se pueden obtener de cultivos

bacterianos de *Prevotella* de forma continua durante el crecimiento o en puntos de tiempo seleccionados durante el crecimiento, conectando un biorreactor a un sistema de flujo tangencial alterno (ATF) (por ejemplo, XCell ATF de Repligen). El sistema ATF retiene células intactas (> 0.22 μm) en el biorreactor y permite que componentes más pequeños (por ejemplo, VE, proteínas libres) pasen a través de un filtro para la recolección. Por ejemplo, el sistema puede configurarse de modo que el filtrado de < 0.22 μm pase a través de un segundo filtro de 100 kDa, permitiendo recolectar especies tales como VE entre 0.22 μm y 100 kDa, y que especies de menos de 100 kDa sean bombeadas nuevamente al biorreactor. Como alternativa, el sistema puede configurarse para permitir que el medio en el biorreactor se reponga y/o modifique durante el crecimiento del cultivo. Las VE recogidas por este método se pueden purificar y/o concentrar adicionalmente mediante ultracentrifugación o filtración, como se ha descrito anteriormente para los sobrenadantes filtrados.

Las VE obtenidas mediante los procedimientos proporcionados en el presente documento pueden purificarse adicionalmente mediante cromatografía en columna según tamaño, por cromatografía de afinidad y por ultracentrifugación en gradiente, usando métodos que pueden incluir, pero sin limitación, el uso de un gradiente de sacarosa o un gradiente Optiprep. En resumen, usando un método de gradiente de sacarosa, si se utilizó precipitación con sulfato amónico o ultracentrifugación para concentrar los sobrenadantes filtrados, los sedimentos se resuspenden en sacarosa al 60 %, Tris 30 mM, a pH 8.0. Si se usó filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, el concentrado se intercambia con tampón en

sacarosa al 60 %, Tris 30 mM, pH 8.0, usando una columna Amicon Ultra. Las muestras se aplican a un gradiente de sacarosa discontinuo del 35-60 % y se centrifugan a 200.000 x g durante 3-24 horas a 4 °C. Brevemente, utilizando un
5 método de gradiente Optiprep, si se utilizó precipitación con sulfato amónico o ultracentrifugación para concentrar los sobrenadantes filtrados, los sedimentos se resuspenden en Optiprep al 35 % en PBS. En algunas realizaciones, si se usó filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, el
10 concentrado se diluye usando Optiprep al 60 % hasta una concentración final de Optiprep al 35 %. Las muestras se aplican a un gradiente de sacarosa discontinuo del 35-60 % y se centrifugan a 200.000 x g durante 3-24 horas a 4 °C.

En algunas realizaciones, para confirmar la
15 esterilidad y el aislamiento de las preparaciones de VE, las VE se diluyen en serie en un medio de agar utilizado para el cultivo de rutina de la bacteria que se está anilizando y se incuban usando condiciones de rutina. Las preparaciones no estériles se pasan a través de un filtro
20 de 0.22 µm para excluir las células intactas. Para aumentar aún más la pureza, las VE aislados pueden tratarse con ADNasa o proteinasa K.

En algunas realizaciones, para la preparación de VE usadas para inyecciones *in vivo*, las VE purificadas se
25 procesan como se ha descrito anteriormente (G. Norheim, et al. 10 (9): e0134353 (2015)). En resumen, después de la centrifugación en gradiente de sacarosa, las bandas que contienen VE se resuspenden hasta una concentración final de 50 µg/ml en una solución que contiene sacarosa al 3 % u
30 otra solución adecuada para inyección I conocida por los expertos en la técnica. Esta solución también puede contener adyuvante, por ejemplo, hidróxido de aluminio a

una concentración de 0-0.5 % (p/v).

En determinadas realizaciones, para hacer que las muestras sean compatibles con pruebas adicionales (por ejemplo, para eliminar la sacarosa antes de la obtención de
5 imágenes TEM o ensayos *in vitro*), las muestras se intercambian con tampón en PBS o Tris 30 mM, pH 8.0 utilizando filtración (por ejemplo, columnas Amicon Ultra), diálisis o ultracentrifugación (200.000 x g, $\geq$ 3 horas, 4°C) y resuspensión.

10 En algunas realizaciones, la esterilidad de las preparaciones de VE puede confirmarse colocando en placas una parte de las VE en un medio de agar utilizado para el cultivo estándar de las bacterias usadas en la generación de las VE e incubando usando condiciones estándar.

15 En algunas realizaciones, determinadas VE se aíslan y se enriquecen mediante cromatografía y restos de superficie de unión en VE. En otras realizaciones, VE seleccionadas se aíslan y/o se enriquecen mediante clasificación celular fluorescente mediante métodos que utilizan reactivos de
20 afinidad, colorantes químicos, proteínas recombinantes u otros métodos conocidos por los expertos en la técnica.

Composiciones farmacéuticas

En determinadas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento son composiciones
25 farmacéuticas que comprenden VE de *Prevotella* y/o bacterias *Prevotella* proporcionadas en el presente documento (por ejemplo, una composición de VE). En algunas realizaciones, la composición de las VE comprende una VE y/o una combinación de VE descritas en el presente documento y un
30 vehículo farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden VE de *Prevotella* sustancialmente o

completamente libres de bacterias. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden tanto VE de *Prevotella* como bacterias *Prevotella* completas (por ejemplo, bacterias vivas, bacterias muertas, bacterias
5 atenuadas). En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden bacterias *Prevotella* que están sustancial o completamente exentas de VE.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos 1 bacteria *Prevotella* por cada 1, 1.1,
10 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1,
15 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49,
20 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1×10^3 ,
25 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 , 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 ,
30 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} ,

9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} VE de partículas de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1 bacteria *Prevotella* por cada 1,
5 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7,
10 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, ., 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48,
15 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950,
20 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 , 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 ,
25 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} VE de partículas de *Prevotella*.

30 En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una determinada relación entre partículas de bacterias *Prevotella* y especies de VE de

Prevotella. El número de partículas de bacterias *Prevotella* basarse en el número real de partículas o (si las bacterias están vivas) el número de UFC. El número de partículas puede establecerse combinando un número determinado de VE de *Prevotella* purificadas con un número determinado de bacterias *Prevotella* purificadas, modificando las condiciones de crecimiento en las que se cultivan las bacterias *Prevotella* o modificando la propia *Prevotella* para que produzca más o menos VE de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, para cuantificar los números de VE de *Prevotella* y/o bacterias *Prevotella* presentes en una muestra bacteriana, se puede usar microscopia electrónica (por ejemplo, EM de secciones ultrafinas congeladas) para visualizar las vesículas y bacterias y contar sus números relativos. Como alternativa, se pueden usar combinaciones de análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA), recuento con Coulter y dispersión de luz dinámica (DLS) o una combinación de estas técnicas. El NTA y el recuento con Coulter cuentan las partículas y muestran sus tamaños. La DLS da la distribución de tamaño de las partículas, pero no la concentración. Las bacterias frecuentemente tienen diámetros de 1-2 μm . El intervalo completo es 0.2-20 μm . Los resultados combinados del recuento con Coulter y el NTA pueden revelar la cantidad de bacterias en una muestra determinada. El recuento con Coulter revela el número de partículas con diámetros de 0.7-10 μm . El NTA revela el número de partículas con diámetros de 50-1.400 nm. Para la mayoría de las muestras bacterianas, el recuento con Coulter solo puede revelar la cantidad de bacterias en una muestra. Las VE tienen un diámetro de 20-250 nm. El NTA permitirá contar la cantidad de partículas de 50-250 nm de diámetro. La DLS revela la

distribución de partículas de diferentes diámetros dentro de un intervalo aproximado de 1 nm - 3 um

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende no más de 1 bacteria *Prevotella* por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 , 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} VE de partículas de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos 1 partícula de VE d *Prevotella* por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8. 1.9, 2, 2.1,

2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3,
3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5,
4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7,
5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9,
5 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1,
8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3,
9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16,
17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46,
10 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61,
62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76,
77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91,
92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250, 300,
350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900,
15 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 , 8×10^3 ,
 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 ,
 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 , 8×10^5 ,
 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 , 8×10^6 ,
 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 , 8×10^7 ,
20 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 ,
 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 , 8×10^9 ,
 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} , 7×10^{10} ,
 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} , 6×10^{11} ,
 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} bacterias *Prevotella*.

25 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica
comprende aproximadamente 1 partícula de VE de *Prevotella*
por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2,
2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2,
3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4,
30 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6,
5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8,
6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8,

8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2,
9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,
16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30,
31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45,
5 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60,
61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75,
76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90,
91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150, 200, 250,
300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850,
10 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 , 7×10^3 ,
 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 ,
 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 , 7×10^5 ,
 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 , 7×10^6 ,
 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 , 7×10^7 ,
15 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 ,
 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 , 7×10^9 ,
 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} , 6×10^{10} ,
 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} , 5×10^{11} ,
 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} bacterias
20 *Prevotella*. En algunas realizaciones, la composición
farmacéutica comprende no más de 1 partícula VE de
Prevotella por cada 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7,
1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9,
3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1,
25 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3,
5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5,
6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7,
7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9,
9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 11, 12,
30 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27,
28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57,

58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72,
73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87,
88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 150,
200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750,
5 800, 850, 900, 950, 1×10^3 , 2×10^3 , 3×10^3 , 4×10^3 , 5×10^3 , 6×10^3 ,
 7×10^3 , 8×10^3 , 9×10^3 , 1×10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 ,
 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 1×10^5 , 2×10^5 , 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 ,
 7×10^5 , 8×10^5 , 9×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , 3×10^6 , 4×10^6 , 5×10^6 , 6×10^6 ,
 7×10^6 , 8×10^6 , 9×10^6 , 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 , 4×10^7 , 5×10^7 , 6×10^7 ,
10 7×10^7 , 8×10^7 , 9×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 3×10^8 , 4×10^8 , 5×10^8 , 6×10^8 ,
 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 , 3×10^9 , 4×10^9 , 5×10^9 , 6×10^9 ,
 7×10^9 , 8×10^9 , 9×10^9 , 1×10^{10} , 2×10^{10} , 3×10^{10} , 4×10^{10} , 5×10^{10} ,
 6×10^{10} , 7×10^{10} , 8×10^{10} , 9×10^{10} , 1×10^{11} , 2×10^{11} , 3×10^{11} , 4×10^{11} ,
 5×10^{11} , 6×10^{11} , 7×10^{11} , 8×10^{11} , 9×10^{11} , y/o 1×10^{12} bacterias
15 *Prevotella*.

En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
20 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de las
25 partículas en la composición farmacéutica son VE de
Prevotella.

En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,

66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de las
partículas en la composición farmacéutica son bacterias
5 *Prevotella*.

En algunas realizaciones, no más del 1 %, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
10 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de las
15 partículas en la composición farmacéutica son VE de
Prevotella.

En algunas realizaciones, no más del 1 %, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
20 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
25 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de las
partículas en la composición farmacéutica son bacterias
Prevotella.

En algunas realizaciones, aproximadamente el 1%, 2%,
3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%,
30 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%,
28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%,
40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%,

52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%,
64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%,
76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99
5 % de las partículas en la composición farmacéutica son VE
de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, aproximadamente el 1%, 2%,
3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%,
16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%,
10 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%,
40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%,
52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%,
64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%,
76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
15 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99
% de las partículas en la composición farmacéutica son
bacterias *Prevotella*.

En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
20 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
25 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de la
proteína en la composición farmacéutica es proteína de VE
de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%, 3%, 4%,
30 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,

42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
5 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de la
proteína en la composición farmacéutica es proteína de
bacterias *Prevotella*.

En algunas realizaciones, no más del 1 %, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
10 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
15 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de la
proteína en la composición farmacéutica es proteína de VE
de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, no más del 1 %, 2%, 3%, 4%,
20 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
25 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de la
proteína en la composición farmacéutica es proteína de
bacterias *Prevotella*.

30 En algunas realizaciones, aproximadamente el 1%, 2%,
3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%,
16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%,

28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%,
40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%,
52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%,
64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%,
5 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99
% de la proteína en la composición farmacéutica es proteína
de VE de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, aproximadamente el 1%, 2%,
10 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%,
16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%,
28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%,
40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%,
52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%,
15 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%,
76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99
% de la proteína en la composición farmacéutica es proteína
de bacterias *Prevotella*.

En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%, 3%, 4%,
20 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
25 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de los
lípidos en la composición farmacéutica son lípidos de VE de
30 *Prevotella*.

En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,

18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
5 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de los
lípidos en la composición farmacéutica son lípidos de
bacterias *Prevotella*.

10 En algunas realizaciones, no más del 1 %, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
15 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de los
lípidos en la composición farmacéutica son lípidos de VE de
20 *Prevotella*.

En algunas realizaciones, no más del 1 %, 2%, 3%, 4%,
5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%,
18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%,
30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%,
25 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%,
54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%,
66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%,
78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%,
90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99 % de los
30 lípidos en la composición farmacéutica son lípidos de
bacterias *Prevotella*.

En algunas realizaciones, aproximadamente el 1%, 2%,

3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%,
16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%,
28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%,
40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%,
5 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%,
64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%,
76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99
% de los lípidos en la composición farmacéutica son lípidos
10 de VE de *Prevotella*.

En algunas realizaciones, aproximadamente el 1%, 2%,
3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%,
16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%,
28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%,
15 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%,
52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%,
64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%,
76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 % o 99
20 % de los lípidos en la composición farmacéutica son lípidos
de bacterias *Prevotella*.

En algunas realizaciones, las VE de *Prevotella* en la
composición farmacéutica se purifican a partir de uno o más
componentes bacterianos. En algunas realizaciones, la
25 composición farmacéutica comprende además otros componentes
bacterianos. En algunas realizaciones, la composición
farmacéutica comprende células bacterianas.

En determinados aspectos, se proporcionan
composiciones farmacéuticas para su administración a
30 sujetos. En algunas realizaciones, las composiciones
farmacéuticas se combinan con materiales activos y/o
inactivos adicionales para producir un producto final, que

puede estar en una sola unidad de dosificación o en un formato de dosis múltiples. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se combinan con un adyuvante, tal como un inmunoadyuvante (por ejemplo, agonistas de STING, agonistas de TLR, agonistas de NOD).

En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un hidrato de carbono. Un "hidrato de carbono" se refiere a un azúcar o polímero de azúcares. Los términos "sacárido", "polisacárido," "hidrato de carbono" y "oligosacárido" puede usarse indistintamente. La mayoría de los hidratos de carbono son aldehídos o cetonas con muchos grupos hidroxilo, usualmente uno en cada átomo de carbono de la molécula. Los hidratos de carbono generalmente tienen la fórmula molecular $C_nH_{2n}O_n$. Un hidrato de carbono puede ser un monosacárido, un disacárido, trisacárido, oligosacárido o polisacárido. El hidrato de carbono más básico es un monosacárido, tal como glucosa, sacarosa, galactosa, manosa, ribosa, arabinosa, xilosa y fructosa. Los disacáridos son dos monosacáridos unidos. Los disacáridos de ejemplo incluyen sacarosa, maltosa, celobiosa y lactosa. Típicamente, un oligosacárido incluye entre tres y seis unidades de monosacáridos (por ejemplo, rafinosa, estaquiosa) y los polisacáridos incluyen seis o más unidades de monosacáridos. Los polisacáridos de ejemplo incluyen almidón, glucógeno y celulosa. Los hidratos de carbono pueden contener unidades de sacáridos modificados, tales como 2'-desoxirribosa donde se ha eliminado un grupo hidroxilo, 2'-fluororribosa, donde un grupo hidroxilo se reemplaza por un flúor, o N-acetilglucosamina, una forma de glucosa que contiene nitrógeno (por ejemplo, 2'-fluororribosa, desoxirribosa y hexosa). Los hidratos de carbono pueden existir en muchas formas diferentes, por

ejemplo, confórmeros, formas cíclicas, formas acíclicas, estereoisómeros, tautómeros, anómeros e isómeros.

En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un lípido. Como se usa en el presente documento, un "lípido" incluye grasas, aceites, triglicéridos, colesterol, fosfolípidos, ácidos grasos en cualquier forma, incluidos los ácidos grasos libres. Las grasas, los aceites y los ácidos grasos pueden estar saturados, insaturados (cis o trans) o parcialmente insaturados (cis o trans). En algunas realizaciones, el lípido comprende al menos un ácido graso seleccionado ente ácido láurico (12:0), ácido mirístico (14:0), ácido palmítico (16:0), ácido palmitoleico (16:1), ácido margárico (17:0), ácido heptadecenoico (17:1), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido linoleico (18:2), ácido linolénico (18:3), ácido octadecatetraenoico (18:4), ácido araquídico (20:0), ácido eicosenoico (20:1), ácido eicosadienoico (20:2), ácido eicosatetraenoico (20:4), ácido eicosapentaenoico (20:5) (EPA), ácido docosanoico (22:0), ácido docosenoico (22:1), ácido docosapentaenoico (22:5), ácido docosahexaenoico (22:6) (DHA) y ácido tetracosanoico (24:0). En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un lípido modificado, por ejemplo, un lípido que se ha modificado mediante cocción.

En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un mineral o fuente de mineral suplementarios. Los ejemplos de minerales incluyen, sin limitación: cloruro, sodio, calcio, hierro, cromo, cobre, yodo, cinc, magnesio, manganeso, molibdeno, fósforo, potasio y selenio. Las formas adecuadas de cualquiera de los minerales anteriores incluyen sales minerales solubles, sales minerales ligeramente solubles, sales minerales insolubles, minerales

quelados, complejos minerales, minerales no reactivos, tales como minerales de carbonilo y minerales reducidos, y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la composición comprende al menos una vitamina suplementaria. La al menos una vitamina puede ser vitaminas solubles en agua o liposolubles. Las vitaminas adecuadas incluyen, pero sin limitación, vitamina C, vitamina A, vitamina E, vitamina B12, vitamina K, riboflavina, niacina, vitamina D, vitamina B6, ácido fólico, piridoxina, tiamina, ácido pantoténico y biotina. Las formas adecuadas de cualquiera de los anteriores son sales de la vitamina, derivados de la vitamina, compuestos que tienen la misma o similar actividad de la vitamina y metabolitos de la vitamina.

En algunas realizaciones, la composición comprende un excipiente. Los ejemplos no limitantes de excipientes adecuados incluyen un agente tamponante, un conservante, un estabilizante, un aglutinante, un agente de compactación, un lubricante, un potenciador de la dispersión, un agente disgregante, un agente aromatizante, un edulcorante y un agente colorante.

En algunas realizaciones, el excipiente es un agente tamponante. Los ejemplos no limitantes de agentes tamponantes adecuados incluyen citrato de sodio, carbonato de magnesio, bicarbonato de magnesio, carbonato de calcio y bicarbonato de calcio.

En algunas realizaciones, el excipiente comprende un conservante. Ejemplos no limitantes de conservantes adecuados incluyen antioxidantes, tales como alfa-tocoferol y ascorbato, y antimicrobianos, tales como parabenos, clorobutanol y fenol.

En algunas realizaciones, la composición comprende un

aglutinante como excipiente. Los ejemplos no limitantes de aglutinantes adecuados incluyen almidones, almidones pregelatinizados, gelatina, polivinilpirrolidona, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa, 5 poliacrilamidas, poliviniloxoazolidona, alcoholes polivinílicos, alcohol de ácido grasoC₁₂-C₁₈, polietilenglicol, polioles, sacáridos, oligosacáridos y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la composición comprende un 10 lubricante como excipiente. Ejemplos no limitativos de lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de cinc, aceites vegetales hidrogenados, esterotex, monoestearato de polioxietileno, talco, polietilenglicol, benzoato de sodio, lauril sulfato 15 sódico, lauril sulfato de magnesio y aceite mineral ligero.

En algunas realizaciones, la composición comprende un potenciador de la dispersión como excipiente. Los ejemplos no limitantes de dispersantes adecuados incluyen almidón, ácido algínico, polivinilpirrolidonas, goma guar, caolín, 20 bentonita, celulosa de madera purificada, glicolato sódico de almidón, silicato isoamórfico y celulosa microcristalina como tensioactivos emulsionantes de alto HLB.

En algunas realizaciones, la composición comprende un disgregante como excipiente. En algunas realizaciones, el 25 disgregante es un disgregante no efervescente. Los ejemplos no limitantes de disgregantes no efervescentes adecuados incluyen almidones tales como almidón de maíz, almidón de patata, almidones pregelatinizados y modificados de los mismos, edulcorantes, arcillas, tal como bentonita, 30 celulosa microcristalina, alginatos, glicolato sódico de almidón, gomas, tales como agar, goma guar, algarroba, karaya, pectina y tragacanto. En algunas realizaciones, el

disgregante es un disgregante efervescente. Los ejemplos no limitantes de disgregantes efervescentes adecuados incluyen bicarbonato sódico en combinación con ácido cítrico y bicarbonato sódico en combinación con ácido tartárico.

5 En algunas realizaciones, la composición es un producto alimenticio (por ejemplo, un alimento o bebida), tal como un alimento o bebida saludable, un alimento o bebida para lactantes, un alimento o bebida para mujeres embarazadas, atletas, ciudadanos mayores u otro grupo
10 específico, un alimento funcional, una bebida, un alimento o bebida para uso específico de salud, un suplemento dietético, un alimento o bebida para pacientes o un alimento para animales. Los ejemplos específicos de alimentos y bebidas incluyen diversas bebidas, tales como
15 zumos, refrescos, bebidas de té, preparaciones para beber, bebidas de gelatina y bebidas funcionales; bebidas alcohólicas, tales como cervezas; alimentos que contienen hidratos de carbono, tales como productos alimenticios de arroz, fideos, panes y pastas; productos de pasta, como
20 jamones de pescado, salchichas, productos de pasta de mariscos; productos de bolsas de retorta, tales como curries, comida aderezada con salsas espesas y almidonadas y sopas chinas; sopas; productos lácteos, tales como leche, bebidas lácteas, helados, quesos y yogures; productos
25 fermentados, tales como pastas fermentadas de soja, yogures, bebidas fermentadas y encurtidos; productos de judías; varios productos de confitería, incluyendo bizcochos, galletas y similares, golosinas, chicles, gominolas, postres fríos, incluyendo gelatinas, caramelos
30 de crema y postres helados; alimentos instantáneos, tales como sopas instantáneas y sopas instantáneas de soja; alimentos para microondas; y similares. Además, los

ejemplos también incluyen alimentos y bebidas saludables preparadas en forma de polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas, líquidos, pastas y gelatinas.

En algunas realizaciones, la composición es un
5 producto alimenticio para animales, incluyendo seres humanos. Los animales, aparte de los seres humanos, no están particularmente limitados, y la composición puede usarse para varios tipos de ganado, aves de corral, mascotas, animales de experimentación y similares. Los
10 ejemplos específicos de los animales incluyen cerdos, ganado bovino, caballos, ovejas, cabras, pollos, patos salvajes, avestruces, patos domésticos, perros, gatos, conejos, hámsters, ratones, ratas, monos y similares, pero los animales no están limitados a los mismos.

15 Agentes terapéuticos

En determinados aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen la administración a un sujeto de una composición farmacéutica descrita en el presente documento sola o en combinación con un agente
20 terapéutico adicional. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un inmunosupresor, un esteroide, un agente terapéutico para el cáncer.

En algunas realizaciones, la VE de *Prevotella* se administra al sujeto antes de que se administre el agente
25 terapéutico (por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas antes o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días antes). En algunas realizaciones,
30 la VE de *Prevotella* se administra al sujeto después de que se administre el agente terapéutico (por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,

18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas después o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días después). En algunas realizaciones, la VE de *Prevotella* y el agente terapéutico se administran al sujeto simultáneamente o casi simultáneamente (por ejemplo, las administraciones se producen separadas por una hora). En algunas realizaciones, al sujeto se le administra un antibiótico antes de que se administre al sujeto la VE de *Prevotella* (por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas antes o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días antes). En algunas realizaciones, al sujeto se le administra un antibiótico después de que se administre al sujeto la VE de *Prevotella* (por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas antes o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 días después). En algunas realizaciones, la VE de *Prevotella* y el antibiótico se administran al sujeto simultáneamente o casi simultáneamente (por ejemplo, las administraciones se producen separadas por una hora).

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente terapéutico para el cáncer. En algunas realizaciones, el agente terapéutico para el cáncer es un agente quimioterapéutico. Entre los ejemplos de tales agentes quimioterapéuticos se incluyen, pero sin limitación, agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclofosfamida; alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa,

carbocuna, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolmelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluido el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma II y caliqueamicina omega 1; dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tal como clodronato; una esperamicina; así como el cromóforo neocarcinostatina y cromóforos de antibióticos de enediina relacionados con cromoproteína), aclacinomisinias, actinomicina, autrarnicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorrubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas,

tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-
5 metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purinas, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidinas, tales como
10 ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; antiadrenales tales como aminoglutetimida,
15 mitotano, trilostano; reabastecedor del ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elformitina; acetato
20 de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiaurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-
25 etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacáridos PSK; razoxano; rizoxina; sizofurano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2.2',2''-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina;
30 manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel y doxetaxel;

clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; complejos de coordinación de platino, tal como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; 5 vincristina; vinorelbina; novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecán (por ejemplo, CPT-11); inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilomitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico; capecitabina; y 10 sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico contra el cáncer es un agente de inmunoterapia contra el cáncer. La inmunoterapia se refiere a un tratamiento que usa el 15 sistema inmunológico de un sujeto para tratar el cáncer, *por ejemplo*, inhibidores del punto de control, vacunas contra el cáncer, citocinas, terapia celular, células CAR-T y terapia de células dendríticas. Los ejemplos no limitantes de inmunoterapias son inhibidores del punto de control e incluyen Nivolumab (BMS, anti-PD-1), 20 pembrolizumab (Merck, anti-PD-1), ipilimumab (BMS, anti-CTLA-4), MEDI4736 (AstraZeneca, anti-PD-L1) y MPDL3280A (Roche, anti-PD-L1). Otras inmunoterapias pueden ser vacunas tumorales, tales como Gardail, Cervarix, BCG, 25 sipulencel-T, Gp100: 209-217, AGS-003, DCVax-L, Algenpantucel-L, Tergenpantucel-L, TG4010, ProstAtak, Prostavac-V/R-TRICOM, Rindopepimul, acetato de péptido E75, IMA901, POL-103A, Belagenpumatumucel-L, GSK1572932A, MDX-1279, GV1001 y Tecemotide. La inmunoterapia se puede 30 administrar mediante inyección (por ejemplo, por vía intravenosa, intratumoral, por vía subcutánea, o en los ganglios linfáticos), pero también se puede administrar por

vía oral, tópicamente o mediante aerosoles. Las inmunoterapias pueden comprender adyuvantes, tales como citocinas.

En algunas realizaciones, el agente de inmunoterapia es un inhibidor del punto de control inmunológico. La inhibición del punto de control inmunológico se refiere, en general, a la inhibición de los puntos de control que las células cancerígenas pueden producir para prevenir o regular por disminución una respuesta inmunitaria. Los ejemplos de proteínas del punto de control inmunológico incluyen, pero sin limitación, CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM-3 o VISTA. Los inhibidores del punto de control inmunológico pueden ser anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen e inhiben una proteína del punto de control inmunológico. Los ejemplos de inhibidores del punto de control inmunológico incluyen, pero sin limitación, nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 y STI-A1010.

En algunas realizaciones, el agente de inmunoterapia es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que, por ejemplo, se une a un antígeno asociado al cáncer. Los ejemplos de antígenos asociados al cáncer incluyen, pero sin limitación, adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfafetoproteína ("AFP"), ARTC1, B-RAF, BAGE-1, BCLX (L), proteína de fusión BCR-ABL b3a2, beta-catenina, BING-4, CA-125, CALCA, antígeno carcinoembrionario ("CEA"), CASP-5, CASP-8, CD274, CD45, Cdc27, CDK12, CDK4, CDKN2A, CEA, CLPP, COA-1, CPSF, CSNK1A1, CTAG1, CTAG2, ciclina D1, ciclina-A1, proteína de fusión dek-can, DKK1, EFTUD2, factor de elongación 2, ENAH (hMena), Ep-CAM, EpCAM, EphA3,

antígeno tumoral epitelial ("ETA"), proteína de fusión ETV6-AML1, EZH2, FGF5, FLT3-ITD, FN1, G250/MN/CAIX, GAGE-1.2.8, GAGE-3.4.5.6.7, GAS7, glipicano-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2/neu, HERV-K-MEL, 5 HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70-2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxiloesterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasa AS, lengsina, M-CSF, MAGE-A1, MAGE-A10, MAGE-A12, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A9, 10 MAGE-C1, MAGE-C2, enzima málica, manmaglobina-A, MART2, MATN, MC1R, MCSP, mdm-2, ME1, Melan-A/MART-1, Meloe, Midkina, MMP-2, MMP-7, MUC1, MUC5AC, mucina, MUM-1, MUM-2, MUM-3, miosina, miosina de clase I, N-ras, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ESO-1/LAGE-2, OA1, OGT, OS-9, polipéptido 15 P, p53, PAP, PAX5, PBF, proteína de fusión pml-RARalfa, mucina epitelial polimórfica ("PEM"), PPP1R3B, PRAME, PRDX5, PSA, PSMA, PTPRK, RAB38/NY-MEL-1, RAGE-1, RBAF600, RGS5, RhoC, RNF43, RU2AS, SAGE, secernina 1, SIRT2, SNRPD1, SOX10, Sp17, SPA17, SSX-2, SSX-4, STEAP1, survivina, 20 proteína de fusión SYT-SSX1 o -SSX2, TAG-1, TAG-2, Telomerasa, TGF-betaRII, TPBG, TRAG-3, triosafosfato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1, XAGE-1b/GAGED2a. En algunas 25 realizaciones, el antígeno es un neoantígeno.

En algunas realizaciones, el agente de inmunoterapia es una vacuna contra el cáncer y/o un componente de una vacuna contra el cáncer (por ejemplo, un péptido y/o proteína antigénica). La vacuna contra el cáncer puede ser 30 una vacuna proteica, una vacuna de ácido nucleico o una combinación de los mismos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la vacuna contra el cáncer comprende un

polipéptido que comprende un epítipo de un antígeno asociado al cáncer. En algunas realizaciones, la vacuna contra el cáncer comprende un ácido nucleico (por ejemplo, ADN o ARN, tal como ARNm) que codifica un epítipo de un antígeno asociado al cáncer. Los ejemplos de antígenos asociados al cáncer incluyen, pero sin limitación, adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfafetoproteína ("AFP"), ARTC1, B-RAF, BAGE-1, BCLX (L), proteína de fusión BCR-ABL b3a2, beta-catenina, BING-4, CA-125, CALCA, antígeno carcinoembrionario ("CEA"), CASP-5, CASP-8, CD274, CD45, Cdc27, CDK12, CDK4, CDKN2A, CEA, CLPP, COA-1, CPSF, CSNK1A1, CTAG1, CTAG2, ciclina D1, ciclina-A1, proteína de fusión dek-can, DKK1, EFTUD2, factor de elongación 2, ENAH (hMena), Ep-CAM, EpCAM, EphA3, antígeno tumoral epitelial ("ETA"), proteína de fusión ETV6-AML1, EZH2, FGF5, FLT3-ITD, FN1, G250/MN/CAIX, GAGE-1.2.8, GAGE-3.4.5.6.7, GAS7, glipicano-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2/neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70-2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxiloesterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasa AS, lengsina, M-CSF, MAGE-A1, MAGE-A10, MAGE-A12, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A9, MAGE-C1, MAGE-C2, enzima málica, manmaglobina-A, MART2, MATN, MC1R, MCSP, mdm-2, ME1, Melan-A/MART-1, Meloe, Midkina, MMP-2, MMP-7, MUC1, MUC5AC, mucina, MUM-1, MUM-2, MUM-3, miosina, miosina de clase I, N-ras, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ESO-1/LAGE-2, OA1, OGT, OS-9, polipéptido P, p53, PAP, PAX5, PBF, proteína de fusión pml-RARalfa, mucina epitelial polimórfica ("PEM"), PPP1R3B, PRAME, PRDX5, PSA, PSMA, PTPRK, RAB38/NY-MEL-1, RAGE-1, RBAF600, RGS5, RhoC, RNF43,

RU2AS, SAGE, secernina 1, SIRT2, SNRPD1, SOX10, Sp17, SPA17, SSX-2, SSX-4, STEAP1, survivina, proteína de fusión SYT-SSX1 o -SSX2, TAG-1, TAG-2, Telomerasa, TGF-betaRII, TPBG, TRAG-3, triosafosfato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, 5 TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1, XAGE-1b/GAGED2a. En algunas realizaciones, el antígeno es un neoantígeno. En algunas realizaciones, la vacuna contra el cáncer se administra con un adyuvante. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero sin limitación, una proteína 10 inmunomoduladora, Adyuvante 65, α -GalCer, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, fosfato de calcio, péptido β -glucano, CpG ODN ADN, GPI-0100, lípido A, lipopolisacárido, Lipovant, Montanide, N-acetil-muramil-L-alanil-D-isoglutamina, Pam3CSK4, quil A, la toxina del 15 cólera (CT) y la toxina termolábil de *Escherichia coli* enterotoxigénica (LT), incluidos los derivados de estos (CTB, mmCT, CTA1-DD, LTB, LTK63, LTR72, dmLT) y dimicolato de trehalosa.

En algunas realizaciones, el agente de inmunoterapia 20 es una proteína inmunomoduladora para el sujeto. En algunas realizaciones, la proteína inmunomoduladora es una citocina o quimiocina. Los ejemplos de proteínas inmunomoduladoras incluyen, pero sin limitación, sustancia quimioatrayente de linfocitos B ("BLC"), quimioquina 11 de motivo C-C 25 ("Eotaxina-1"), proteína 2 quimiotáctica de eosinófilos ("Eotaxina-2"), factor estimulante de colonias de granulocitos ("G-CSF"), factor estimulante de colonias de macrófagos granulocitos ("GM-CSF"), 1-309, molécula de adhesión intercelular 1 ("ICAM-1"), interferón alfa ("IFN- 30 alfa"), interferón beta ("IFN-beta") Interferón gamma ("IFN-gamma"), interlucina-1 alfa ("IL-1 alfa"), interlucina-1 beta ("IL-1 beta"), antagonista del receptor

de la interleucina 1 ("IL-1 ra"), interleucina-2 ("IL-2"),
interleucina-4 ("IL-4"), interleucina-5 ("IL-5"),
interleucina-6 ("IL-6"), receptor soluble de la
interleucina-6 ("IL-6 sR"), interleucina-7 ("IL-7"),
5 interleucina-8 ("IL-8"), interleucina-10 ("IL-10"),
interleucina-11 ("IL-11"), subunidad beta de Interleucina-
12 ("IL-12 p40" o "IL-12 p70"), interleucina-13 ("IL-13"),
interleucina-15 ("IL-15"), interleucina-16 ("IL-16"),
interleucina-17A-F ("IL-17A-F"), interleucina-18 ("IL-18"),
10 interleucina-21 ("IL-21"), interleucina-22 ("IL-22"),
interleucina-23 ("IL-23"), interleucina-33 ("IL-33"),
ligando 2 de quimiocina (motivo C-C) ("MCP-1"), factor
estimulante de colonias de macrófagos ("M-CSF"), monocina
inducida por interferón gamma ("MIG"), ligando 2 de
15 quimiocina (motivo C-C) ("MIP-1 alfa"), ligando 4 de
quimiocina (motivo C-C) ("MIP-1 beta"), proteína 1-delta
inflamatoria de macrófagos ("delta MIP-1"), subunidad B del
factor de crecimiento derivado de plaquetas ("PDGF-BB"),
ligando 5 de quimioquina (motivo C-C), regulado por
20 activación, célula T normal expresada y secretada
("RANTES"), inhibidor 1 de TIMP metalopeptidasa ("TIMP-1"),
inhibidor 2 de TIMP metalopeptidasa ("TIMP-2"), factor de
necrosis tumoral, linfoxina-alfa ("TNF alfa"), factor de
necrosis tumoral, linfoxina-beta ("TNF beta"), receptor
25 soluble de tipo 1 de TNF ("sTNFRI"), sTNFRIIAR, factor
neurotrófico derivado del cerebro ("BDNF"), factor de
crecimiento de fibroblastos básico ("bFGF"), proteína
morfo-genética ósea 4 ("BMP-4"), proteína morfo-genética ósea
5 ("BMP-5"), proteína morfo-genética ósea 7 ("BMP-7"),
30 factor de crecimiento nervioso ("b-NGF"), factor de
crecimiento epidérmico ("EGF"), receptor del factor de
crecimiento epidérmico ("EGFR"), factor de crecimiento

endotelial vascular derivado de la glándula endocrina ("EG-VEGF"), factor de crecimiento de fibroblastos 4 ("FGF-4"), factor de crecimiento de queratinocitos ("FGF-7"), factor de diferenciación del crecimiento 15 ("GDF-15"), factor neurotrófico derivado de células gliales ("GDNF"), hormona de crecimiento, factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina ("HB-EGF"), factor de crecimiento de hepatocitos ("HGF"), proteína 1 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina ("IGFBP-1"), proteína 2 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina ("IGFBP-2"), proteína 3 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina ("IGFBP-3"), proteína 4 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina ("IGFBP-4"), proteína 6 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina ("IGFBP-6"), factor de crecimiento similar a la insulina 1 ("IGF-1"), insulina, factor estimulante de colonias de macrófagos ("M-CSF R"), receptor del factor de crecimiento nervioso ("NGF R"), neurotrofina-3 ("NT-3"), neurotrofina-4 ("NT-4"), factor inhibidor de la osteoclastogénesis ("osteoprotegerina"), receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas ("PDGF-AA"), biosíntesis de fosfatidilinositol-glucano ("PIGF"), Skp, culina, complejos que contienen caja F ("SCF"), Receptor del factor de células madre ("SCF R"), factor alfa transformante del crecimiento ("TGF alfa"), factor beta 1 transformante del crecimiento ("TGF beta 1"), factor beta 3 transformante del crecimiento ("TGF beta 3"), factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGF"), receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGFR2"), receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGFR3"), VEGF-D 6Ckina, receptor de tirosina-proteína quinasa UFO ("Axl"), betacelulina ("BTC"), quimiocina

epitelial asociada a la mucosa ("CCL28"), ligando 27 de quimiocina (motivo C-C) ("CTACK"), ligando 16 de quimiocina (motivo C-X-C) ("CXCL16"), quimioquina 5 de motivo C-X-C ("ENA-78"), ligando 26 de quimiocina (motivo C-C) ("Eotaxina-3"), proteína quimiotáctica 2 de granulocitos ("GCP-2"), GRO, ligando 14 de quimiocina (motivo C-C) ("HCC-I"), ligando 16 de quimiocina (motivo C-C) ("HCC-4"), interleucina-9 ("IL-9"), interleucina-17 F ("IL-17F"), proteína de unión a interleucina-18 ("IL-18 BPa"), interleucina-28 A ("IL-28A"), interleucina 29 ("IL-29"), interleucina 31 ("IL-31"), quimioquina 10 de motivo C-X-C ("IP-10"), receptor de quimioquinas CXCR3 ("I-TAC"), factor inhibidor de la leucemia ("LIF"), ligando ligero de quimiocinas (motivo C) ("linfotactina"), proteína quimiotáctica 2 de monocitos ("MCP-2"), proteína quimiotáctica 3 de monocitos ("MCP-3"), proteína quimiotáctica 4 de monocitos ("MCP-4"), quimiocina derivada de macrófagos ("MDC"), factor inhibidor de la migración de macrófagos ("MIF"), ligando 20 de quimiocina (motivo C-C) ("MIP-3 alfa"), quimioquina 19 de motivo C-C ("MIP-3 beta"), ligando 23 de quimiocina (motivo C-C) ("MPIF-1"), cadena alfa de la proteína estimulante de macrófagos ("MSPalfa"), proteína 1 del ensamblaje del nucleosoma similar a 4 ("NAP-2"), fosfoproteína secretada 1 ("Osteopontina"), Citocinas pulmonares y reguladas por activación ("PARC"), factor plaquetario 4 ("PF4"), factor 1 alfa derivado de células estromales ("SDF-1 alfa"), ligando 17 de quimiocina (motivo C-C) ("TARC"), quimioquina expresada en el timo ("TECK"), linfopoyetina del estroma tímico ("TSLP 4- IBB"), antígeno CD 166 ("ALCAM"), clúster de diferenciación 80 ("B7-1"), miembro 17 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral ("BCMA"), clúster de diferenciación 14

("CD14"), clúster de diferenciación 30 ("CD30"), clúster de diferenciación 40 ("ligando de CD40"), molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 1 (glicoproteína biliar) ("CEACAM-1"), receptor de muerte 6 (DR6), desoxitimidina quinasa ("Dtk"), glicoproteína de membrana tipo 1 ("endogлина"), receptor tirosina de proteína quinasa erbB-3 ("ErbB3"), molécula de adhesión leucocitaria endotelial 1 ("E-Selectina"), antígeno 1 de apoptosis ("Fas"), tirosina quinasa 3 similar a Fms ("Flt-3L"), miembro 1 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral ("GITR"), miembro 14 de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral ("HVEM"), molécula de adhesión intercelular 3 ("ICAM-3"), IL-1 R4, IL-1 RI, IL-10 Rbeta, IL-17R, IL-2Rgamma, IL-21R, proteína 2 de la membrana del lisosoma ("LIMPII"), lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos ("Lipocalina-2"), CD62L ("L-Selectina"), endotelio linfático ("LYVE-1"), secuencia A relacionada con el polipéptido de MHC de clase I ("MICA"), secuencia B relacionada con el polipéptido MHC de clase I ("MICB"), NRG1-betal, receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas de tipo beta ("PDGF Rbeta"), molécula de adhesión de células endoteliales de plaquetas ("PECAM-1"), RAGE, receptor celular 1 del virus de la hepatitis A ("TIM-1"), miembro IOC de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral ("TRAIL R3"), Dominio de unión a transglutaminasa de proteína trapina ("trapina-2"), receptor de uroquinasa ("uPAR"), proteína de adhesión de células vasculares 1 ("VCAM-1"), XEDARActivina A, proteína relacionada con Agouti ("AgRP"), ribonucleasa 5 ("angiogenina"), angiopoyetina 1, angiostatina, cateprina S, CD40, proteína IB de la familia de Cryptic ("Cripto-1"), DAN, proteína relacionada con Dickkopf 1 ("DKK-1"), E-

cadherina, molécula de adhesión de células epiteliales ("EpCAM"), ligando Fas (FasL o CD95L), Fcγ RIIB/C, foUistatina, galectina-7, molécula de adhesión intercelular 2 ("ICAM-2"), IL-13 R1, IL-13R2, IL-17B, IL-2 Ra, IL-2 Rb, 5 IL-23, LAP, molécula de adhesión celular neuronal ("NrCAM"), inhibidor del activador de plasminógeno-1 ("PAI-1"), receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas ("PDGF-AB"), resistina, factor 1 derivado de células estromales ("SDF-1 beta"), sgpl30, proteína 10 secretada relacionada con Frizzled 2 ("ShhN"), lecitinas de tipo inmunoglobulina de unión a ácido siálico ("Siglec-5"), ST2, factor beta 2 transformante de crecimiento ("TGF beta 2"), Tie-2, trombopoyetina ("TPO"), miembro 10D de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral 15 ("TRAIL R4"), receptor desencadenante expresado en células mieloides 1 ("TREM-1"), factor de crecimiento endotelial vascular C ("VEGF-C"), VEGFR1Adiponectina, adiposina ("Y"), alfafetoproteína ("AFP"), similar a angiopoietina 4 ("ANGPTL4"), beta-2-microglobulina ("B2M"), molécula de 20 adhesión de células basales ("BCAM"), antígeno 125 de hidratos de carbono ("CA125"), antígeno 15-3 de cáncer ("CA15-3"), antígeno carcinoembrionario ("CEA"), proteína del receptor de cAMP ("CRP"), receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano ("ErbB2"), folistatina, 25 hormona foliculoestimulante ("FSH"), ligando 1 de quimioquina (motivo C-X-C) ("GRO alfa"), gonadotropina coriónica humana ("beta HCG"), receptor 1 del factor de crecimiento similar a insulina ("IGF-1 sR"), IL-1 sRII, IL-3, IL-18 Rb, IL-21, leptina, metaloproteinasa-1 de la 30 matriz ("MMP-1"), metaloproteinasa-2 de la matriz ("MMP-2"), metaloproteinasa-3 de la matriz ("MMP-3"), metaloproteinasa-8 de la matriz ("MMP-8"),

metaloproteinasa-9 de la matriz ("MMP-9"),
metaloproteinasa-10 de la matriz ("MMP-10"),
metaloproteinasa-13 de la matriz ("MMP-13"), molécula de
adhesión de células neurales ("NCAM-1"), entactina
5 ("Nidogen-1"), enolasa específica de la neurona ("NSE"),
oncostatina M ("OSM"), procalcitonina, prolactina, antígeno
prostático específico ("PSA"), lecitina 9 similar a Ig de
unión a ácido siálico ("Siglec-9"), ADAM 17 endopeptidasa
("TACE"), tiroglobulina, inhibidor de metaloproteinasa 4
10 ("TIMP-4"), TSH2B4, proteína 9 que contiene el dominio de
desintegrina y metaloproteinasa ("ADAM-9"), angiopoyetina
2, miembro 13 de la superfamilia del ligando del factor de
necrosis tumoral/miembro B de la familia de la
fosfoproteína nuclear rica en leucina ácida 32 ("APRIL"),
15 proteína morfogenética ósea 2 ("BMP-2"), proteína
morfogenética ósea 9 ("BMP-9"), componente del complemento
5a ("C5a"), catepsina L, CD200, CD97, chemerin, miembro 6B
de la superfamilia del receptor del factor de necrosis
tumoral ("DcR3"), proteína 2 de unión a ácidos grasos
20 ("FABP2"), proteína de activación de fibroblastos, alfa
("FAP"), factor de crecimiento de fibroblastos 19 ("FGF-
19"), galectina-3, receptor del factor de crecimiento de
hepatocitos ("HGF R"), IFN-gammalfa/beta R2, factor de
crecimiento similar a la insulina 2 ("IGF-2"), receptor 2
25 del factor de crecimiento similar a la insulina ("IGF-2
R"), receptor 6 de interleucina-1 ("IL-1R6"), interleucina
24 ("IL-24"), interleucina 33 ("IL-33", Kalikreína 14,
asparaginil endopeptidasa ("Legumaina"), receptor 1 de
lipoproteínas de baja densidad oxidadas ("LOX-1"), lecitina
30 de unión a manosa ("MBL"), neprilisina ("NEP"), homólogo 1
de Notch, asociado a la translocación (Drosophila) ("Notch-
1"), nefroblastoma sobreexpresado ("NOV"), osteoactivina,

proteína 1 de muerte celular programada ("PD-1"), N-acetilmuramoyl-L-alanina amidasa ("PGRP-5"), serpina A4, proteína 3 relacionada con frizzled secretada ("sFRP-3"), trombomodulina, receptor 2 de tipo Toll ("TLR2"), miembro 5 10A de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral ("TRAIL R1"), transferrina ("TRF"), WIF-1ACE-2, albúmina, AMICA, angiopoietina 4, factor de activación de células B ("BAFF"), antígeno de hidratos de carbono 19-9 ("CA19-9"), CD 163, clusterina, CRT AM, ligando 14 de 10 quimiocina (motivo C-X-C) ("CXCL14"), cistatina C, decorina ("DCN"), proteína 3 relacionada con Dickkopf ("Dkk-3"), proteína 1 de tipo delta ("DLL1"), fetuina A, factor de crecimiento 1 de unión a heparina ("aFGF"), receptor alfa de folato ("FOLR1"), furina, proteína de clasificación 1 15 asociada a GPCR ("GASP-1"), proteína de clasificación 2 asociada a GPCR ("GASP-2"), receptor del factor estimulante de colonias de granulocitos ("G-CSF R"), serina proteasa hepsina ("HAI-2"), receptor de interleucina-17B ("IL-17B R"), interleucina 27 ("IL-27"), gen 3 de activación de 20 linfocitos ("LAG-3"), apolipoproteína A-V ("LDL R"), pepsinógeno I, proteína de unión a retinol 4 ("RBP4"), SOST, proteoglicano de heparán sulfato ("Syndecan-1"), miembro de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral 13B ("TACI"), inhibidor de la vía del 25 factor tisular ("TFPI"), TSP-1, superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, miembro 10b ("TRAIL R2"), TRANCE, troponina I, activador de plasminógeno uroquinasa ("uPA"), cadherina 5, tipo 2 o VE-cadherina (endotelio vascular) también conocido como CD144 ("VE-cadherina"), 30 proteína 1 de la ruta de señalización inducible por WNT1 ("WISP-1") y activador del receptor del factor nuclear κ B ("RANK").

En algunas realizaciones, el agente terapéutico contra el cáncer es un compuesto anticanceroso. Ejemplos de compuestos anticancerosos incluyen, pero sin limitación, alemtuzumab (Campath®), alitretinoína (Panretin®),
5 anastrozol (Arimidex®), bevacizumab (Avastin®), bexaroteno (Targretin®), bortezomib (Velcade®), bosutinib (Bosulif®), brentuximab vedotina (Adcetris®), cabozantinib (Cometriq™), carfilzomib (Kymprolis™), cetuximab (Erbix®), crizotinib (Xalkori®), dasatinib (Sprycel®), denileukin
10 diftitox (Ontak®), clorhidrato de erlotinib (Tarceva®), everolimus (Afinitor®), exemestano (Aromasin®), fulvestrant (Faslodex®), gefitinib (Iressa®), ibritumomab tiuxetan (Zevalin®), mesilato de imatinib (Gleevec®), ipilimumab (Yervoy™), ditosilato de lapatinib (Tykerb®), letrozol
15 (Femara®), nilotinib (Tasigna®), ofatumumab (Arzerra®), panitumumab (Vectibix®), clorhidrato de pazopanib (Votrient®), pertuzumab (Perjeta™), pralatrexato (Folotyn®), regorafenib (Stivarga®), rituximab (Rituxan®), romidepsina (Istodax®), tosilato de sorafenib (Nexavar®),
20 malato de sunitinib (Sutent®), tamoxifeno, temsirolimus (Torisel®), toremifeno (Fareston®), tositumomab y ¹³¹I-tositumomab (Bexxar®), trastuzumab (Herceptin®), tretinoína (Vesanoid®), vandetanib (Caprelsa®), vemurafenib (Zelboraf®), vorinostat (Zolinza®) y Ziv-aflibercept
25 (Zaltrap®).

Ejemplos de compuestos anticancerosos que modifican la función de las proteínas que regulan la expresión génica y otras funciones celulares (por ejemplo, inhibidores de HDAC, ligantes del receptor de retinoides) son vorinostat
30 (Zolinza®), bexaroteno (Targretin®) y romidepsina (Istodax®), alitretinoína (Panretin®) y tretinoína (Vesanoid®).

Ejemplos de compuestos anticancerosos que inducen apoptosis (por ejemplo, inhibidores del proteasoma, antifolatos) son bortezomib (Velcade®), carfilzomib (Kyprolis™) y pralatrexato (Folotyn®).

5 Ejemplos de compuestos anticancerosos que aumentan la respuesta inmunitaria antitumoral (por ejemplo, anti CD20, anti CD52; antígeno 4 asociado a linfocitos T anticitotóxicos) son rituximab (Rituxan®), alemtuzumab (Campath®), ofatumumab (Arzerra®) e ipilimumab (Yervoy™).

10 Ejemplos de compuestos anticancerosos que administran agentes tóxicos a células cancerosas (por ejemplo, fusiones de radionucleidos anti-CD20; fusiones de toxina IL-2-difteria; fusiones anti-CD30-monometilauristatina E (MMAE) son tositumomab y 131I-tositumomab (Bexxar®) e ibritumomab
15 tiuxetán (Zevalin®), denileukin diftitox (Ontak®) y brentuximab vedotin (Adcetris®).

Otros ejemplos de compuestos anticancerosos son inhibidores de molécula pequeña y conjugados de los mismos, *por ejemplo*, Janus quinasa, ALK, Bcl-2, PARP, PI3K,
20 receptor de VEGF, Braf, MEK, CDK y HSP90.

Ejemplos de compuestos anticancerosos basados en platino incluyen, por ejemplo, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, satraplatino, picoplatino, nedaplatino, triplatino y lipoplatino. Otros medicamentos basados en
25 metales adecuados para el tratamiento incluyen, pero sin limitación, compuestos basados en rutenio, derivados de ferroceno, compuestos a base de titanio y compuestos a base de galio.

En algunas realizaciones, el cáncer terapéutico es un
30 resto radiactivo que comprende un radionucleido. Ejemplos de radionucleidos incluyen, pero sin limitación, Cr-51, Cs-131, Ce-134, Se-75, Ru-97, I-125, Eu-149, Os-189m, Sb-119,

I-123, Ho-161, Sb-117, Ce-139, In-111, Rh-103m, Ga-67, Tl-201, Pd-103, Au-195, Hg-197, Sr-87m, Pt-191, P-33, Er-169, Ru-103, Yb-169, Au-199, Sn-121, Tm-167, Yb-175, In-113m, Sn-113, Lu-177, Rh-105, Sn-117m, Cu-67, Sc-47, Pt-195m, Ce-141, I-131, Tb-161, As-77, Pt-197, Sm-153, Gd-159, Tm-173, Pr-143, Au-198, Tm-170, Re-186, Ag-111, Pd-109, Ga-73, Dy-165, Pm-149, Sn-123, Sr-89, Ho-166, P-32, Re-188, Pr-142, Ir-194, In-114m/In-114 y Y-90.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico para el cáncer es un antibiótico. Por ejemplo, si se detecta la presencia de una bacteria asociada al cáncer y/o un perfil de microbioma asociado al cáncer de acuerdo con los métodos provistos en el presente documento, se pueden administrar antibióticos para eliminar las bacterias asociadas al cáncer del sujeto. "Antibióticos" se refiere ampliamente a compuestos capaces de inhibir o prevenir una infección bacteriana. Los antibióticos se pueden clasificar de varias maneras, incluyendo su uso para infecciones específicas, su mecanismo de acción, su biodisponibilidad o su espectro de microbio objetivo (por ejemplo, bacterias Gramnegativas frente a Grampositivas, bacterias aerobias frente a anaerobias, etc.) y pueden usarse para matar bacterias específicas en áreas específicas del huésped ("nichos") (Leekha, et al 2011. General Principles of Antimicrobial Therapy. Mayo Clin Proc. 86(2): 156-167). En determinadas realizaciones, los antibióticos pueden usarse para atacar selectivamente a bacterias de un nicho específico. En algunas realizaciones, los antibióticos que se sabe que tratan una infección particular que incluye un nicho de cáncer se pueden usar para atacar los microbios asociados al cáncer, incluidas las bacterias asociadas al cáncer en ese nicho. En otras realizaciones, los antibióticos se

administran después del tratamiento bacteriano. En algunas realizaciones, los antibióticos se administran después del tratamiento bacteriano para eliminar el injerto.

En algunos aspectos, los antibióticos se pueden
5 seleccionar en función de sus propiedades bactericidas o bacteriostáticas. Los antibióticos bactericidas incluyen mecanismos de acción que interrumpen la pared celular (por ejemplo, β -lactámicos), la membrana celular (por ejemplo, daptomicina) o el ADN bacteriano (por ejemplo,
10 fluoroquinolonas). Los agentes bacteriostáticos inhiben la replicación bacteriana e incluyen sulfonamidas, tetraciclinas y macrólidos, y actúan inhibiendo la síntesis de proteínas. Asimismo, aunque algunos medicamentos pueden ser bactericidas en ciertos organismos y bacteriostáticos
15 en otros, conocer el organismo diana permite a un experto en la materia seleccionar un antibiótico con las propiedades apropiadas. En ciertas condiciones de tratamiento, los antibióticos bacteriostáticos inhiben la actividad de los antibióticos bactericidas. Por tanto, en
20 determinadas realizaciones, los antibióticos bactericidas y bacteriostáticos no se combinan.

Los antibióticos incluyen, pero sin limitación, aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefem, carbapenémicos, cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptidos,
25 macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, antibióticos polipeptídicos, quinolonas, fluoroquinolona, sulfonamidas, tetraciclinas, y compuestos antimicobacterianos, y combinaciones de los mismos.

Los aminoglucósidos incluyen, pero sin limitación,
30 amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, tobramicina, paromomicina y espectinomicina. Los aminoglucósidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias

Gramnegativas, tal como *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Francisella tularensis*, y contra ciertas bacterias aerobias, pero menos eficaces contra anaerobios obligados/facultativos. Se cree que los
5 aminoglucósidos se unen a la subunidad ribosómica bacteriana 30S o 50S, inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

Las ansamicinas incluyen, pero sin limitación, geldanamicina, herbimicina, rifamicina y estreptovaricina.
10 Se cree que geldanamicina y herbimicina inhiben o alteran la función de la proteína del shock térmico 90.

Los carbacefem incluyen, pero sin limitación, loracarbef. Se cree que los carbacefem inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana.

15 Los carbapenémicos incluyen, pero sin limitación, ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina y meropenem. Los carbapenémicos son bactericidas tanto para bacterias Grampositivas como Gramnegativas como antibióticos de amplio espectro. Se cree que los carbapenémicos inhiben la
20 síntesis de la pared celular bacteriana.

Las cefalosporinas incluyen, pero sin limitación, cefadroxilo, cefazolina, cefalotina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, ceftazidima, cefprozilo, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona,
25 cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, ceftarolina fosamil y ceftobiprol. Las cefalosporinas seleccionadas son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gramnegativas y contra bacterias Grampositivas, incluyendo *Pseudomonas*, ciertas
30 cefalosporinas son eficaces contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Se cree que las cefalosporinas inhiben la síntesis de la pared celular

bacteriana al alterar la síntesis de la capa de peptidoglicanos de las paredes celulares bacterianas.

Los glicopéptidos incluyen, pero sin limitación, teicoplanina, vancomicina y telavancina. Los glicopéptidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias grampositivas aerobias y anaerobias, incluyendo MRSA y *Clostridium difficile*. Se cree que los glucopéptidos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al alterar la síntesis de la capa de peptidoglicano de las paredes celulares bacterianas.

Las lincosamidas incluyen, pero sin limitación, clindamicina y lincomicina. Las lincosamidas son eficaces, por ejemplo, contra las bacterias anaerobias, así como *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Se cree que las lincosamidas se unen a la subunidad ribosómica 50S bacteriana, inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

Los lipopéptidos incluyen, pero sin limitación, daptomicina. Los lipopéptidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Grampositivas. Se cree que los lipopéptidos se unen a la membrana bacteriana y causan una despolarización rápida.

Los macrólidos incluyen, pero sin limitación, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, rxitromicina, troleandomicina, telitromicina y espiramicina. Los macrólidos son eficaces, por ejemplo, contra estreptococos y *Mycoplasma*. Se cree que los macrólidos se unen a la subunidad bacteriana o ribosómica 50S, por lo tanto, inhibe la síntesis de proteínas bacterianas.

Los monobactámicos incluyen, pero sin limitación, aztreonam. Los monobactámicos son eficaces, por ejemplo,

contra bacterias Gramnegativas. Se cree que los monobactámicos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al alterar la síntesis de la capa de peptidoglicano de las paredes celulares bacterianas.

5 Los nitrofuranos incluyen, pero sin limitación, furazolidona y nitrofurantoína.

Las oxazolidononas incluyen, pero sin limitación, linezolid, posizolid, radezolid y torezolid. Se cree que las oxazolidononas son inhibidores de la síntesis de
10 proteínas.

Las penicilinas incluyen, pero sin limitación, amoxicilina, ampicilina, azlocilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina
15 V, piperacilina, temocilina y ticarcilina. Las penicilinas son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Grampositivas, anaerobios facultativos, por ejemplo, estreptococos, Borrelia y Treponema. Se cree que las penicilinas inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al alterar la
20 síntesis de la capa de peptidoglucano de las paredes celulares bacterianas.

Las combinaciones de penicilina incluyen, pero sin limitación, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, piperacilina/tazobactam y
25 ticarcilina/clavulanato.

Los antibióticos polipeptídicos incluyen, pero sin limitación, bacitracina, colistina y polimixina B y E. Los antibióticos polipeptídicos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gramnegativas. Se cree que ciertos
30 antibióticos polipeptídicos inhiben el isoprenil pirofosfato implicado en la síntesis de la capa de peptidoglucano de las paredes celulares bacterianas,

mientras que otros desestabilizan la membrana bacteriana externa al desplazar contraiones bacterianos.

Las quinolonas y fluoroquinolonas incluyen, pero sin limitación, ciprofloxacino, enoxacino, gatifloxacino, 5 gemifloxacino, levofloxacino, lomefloxacino, moxifloxacino, ácido nalidíxico, norfloxacino, ofloxacino, trovafloxacino, grepafloxacino, esparfloxacino y temafloxacino. Las quinolonas/fluoroquinolonas son eficaces, por ejemplo, contra *Streptococcus* y *Neisseria*. Se cree que las 10 quinolonas/fluoroquinolonas inhiben la ADN girasa o la topoisomerasa IV bacterianas, por lo tanto, inhiben la replicación y la transcripción del ADN.

Las sulfonamidas incluyen, pero sin limitación, mafenida, sulfacetamida, sulfadiazina, sulfadiazina de 15 plata, sulfadimetoxina, sulfametizol, sulfametoxazol, sulfanilimida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol (cotrimoxazol) y sulfonamidocrisoidina. Se cree que las sulfonamidas inhiben la síntesis de folato mediante la inhibición competitiva de la dihidropteroato 20 sintetasa, por lo tanto, inhibe la síntesis de ácidos nucleicos.

Las tetraciclinas incluyen, pero sin limitación, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina y tetraciclina. Las tetraciclinas son eficaces, por ejemplo, 25 contra bacterias Gramnegativas. Se cree que las tetraciclinas se unen a la subunidad ribosómica 30S bacteriana, inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

Los compuestos antimicobacterianos incluyen, pero sin 30 limitación, clofazimina, dapsona, capreomicina, cicloserina, etambutol, etionamida, isoniácida, pirazinamida, rifampicina, rifabutina, rifapentina y

estreptomina.

Los antibióticos adecuados también incluyen arsfenamina, cloranfenicol, fosfomicina, ácido fusídico, metronidazol, mupirocina, platensimicina, 5 quinupristina/dalfopristina, tigeciclina, tinidazol, trimetoprim amoxicilina/clavulanato, ampicilina/sulbactam, amfomicina ristocetina, azitromicina, bacitracina, buforina II, carbomicina, cecropina Pl, claritromicina, eritromicinas, furazolidona, ácido fusídico, fusidato de 10 Na, gramicidina, imipenem, indolicidina, josamicina, magainano II, metronidazol, nitroimidazoles, mikamicina, mutacina B-Ny266, mutacina B-JHI 140, mutacina J-T8, nisina, nisina A, novobiocina, oleandomicina, ostreogrocina, piperacilina/tazobactam, pristinamicina, 15 ramoplanina, ranalexina, reuterina, rifaximina, rosamicina, rosaramicina, espectinomicina, espiamicina, estafiloximina, estreptogramina, estreptogramina A, sinergistina, taurolidina, teicoplanina, telitromicina, ticarcilina/ácido clavulánico, triacetiloleandomicina, 20 tilosin, tirocidina, tirotricina, vancomicina, vemamicina y virginiamicina.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente inmunosupresor, un DMARD, un medicamento para controlar el dolor, un esteroide, un 25 fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) o un antagonista de citocina, y combinaciones de los mismos. Los agentes representativos incluyen, pero sin limitación, ciclosporina, retinoides, corticoesteroides, derivado de ácido propiónico, derivado de ácido acético, derivados de 30 ácido enólico, derivados de ácido fenámico, inhibidores de la Cox-2, lumiracoxib, ibuprofeno, salicilato de magnesio y colina, fenoprofeno, salsalato, difunisal, tolmetina,

ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, indometacina, sulindaco, etodolaco, ketorolaco, nabumetona, naproxeno, valdecoxib, etoricoxib, MK0966; rofecoxib, paracetamol, celecoxib, diclofenaco, tramadol, piroxicam, meloxicam, 5 tenoxicam, droxicam, lornoxicam, isoxicam, ácido mefanámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, tolfenámico, valdecoxib, parecoxib, etodolaco, indometacina, aspirina, ibuprofeno, firocoxib, metotrexato (MTX), medicamentos antipalúdicos (por ejemplo, 10 hidroxicloroquina y cloroquina), sulfasalazina, leflunomida, azatioprina, ciclosporina, sales de oro, minociclina, ciclofosfamida, D-penicilamina, minociclina, auranofina, tacrolimus, miocrisina, clorambucilo, antagonistas de TNF alfa (por ejemplo, antagonistas de TNF 15 alfa o antagonistas de receptor de TNF alfa), por ejemplo, ADALIMUMAB (Humira®), ETANERCEPT (Enbrel®), INFLIXIMAB (Remicade®; TA-650), CERTOLIZUMAB PEGOL (Cimzia®; CDP870), GOLIMUMAB (Simpom®; CNTO 148), ANAKINRA (Kineret®), RITUXIMAB (Rituxan®; MabThera®), ABATACEPT (Orencia®), 20 TOCILIZUMAB (RoActemra/Actemra®), antagonistas de integrina (TYSABRI® (natalizumab)), antagonistas de IL-1 (ACZ885 (Ilaris)), anakinra (Kineret®)), antagonistas de CD4, antagonistas de IL-23, antagonistas de IL-20, antagonistas de IL-6, antagonistas BlyS (por ejemplo, atacicept, 25 Benlysta®/LymphoStat-B® (belimumab)), inhibidores de p38, antagonistas de CD20 (ocrelizumab, ofatumumab (Arzerra®)), antagonistas de interferón gamma (fontolizumab), prednisolona, prednisona, dexametasona, cortisol, cortisona, hidrocortisona, metilprednisolona, betametasona, 30 triamcinolona, beclometasona, fludrocortisona, desoxicorticosterona, aldosterona, doxiciclina, vancomicina, pioglitazona, SBI-087, SCIO-469, Cura-100,

oncoxina + viusid, TwHF, metoxsalen, vitamina D -
ergocalciferol, milnacipran, paclitaxel, rosiglitazona,
tacrolimus (Prograf®), RADOOL, rapamune, rapamicina,
fostamatinib, fentanilo, XOMA 052, fostamatinib disódico,
5 rosiglitazona, curcumina (Longvida TM), rosuvastatina,
maraviroc, ramipril, milnacipran, cobiprostona, somatropina,
vector de terapia génica tgAAC94, MK0359, GW856553,
esomeprazol, everolimus, trastuzumab, inhibidores de JAK1 y
JAK2, inhibidores de pan JAK, por ejemplo, piridona
10 tetracíclica 6 (P6), 325, PF-956980, denosumab,
antagonistas de IL-6, antagonistas de CD20, antagonistas de
CTLA4, antagonistas de IL-8, antagonistas de IL-21,
antagonistas de IL-22, antagonistas de integrina (Tysabri®
(natalizumab)), antagonistas del VEGF, antagonistas de
15 CXCL, antagonistas de MMP, antagonistas de defensina,
antagonistas de IL-1 (incluyendo antagonistas de IL-1 beta)
y antagonistas de IL-23 (por ejemplo, señuelos receptores,
anticuerpos antagonistas, etc.).

En algunas realizaciones, el agente es un agente
20 inmunosupresor. Los ejemplos de agentes inmunosupresores
incluyen, pero sin limitación, corticoesteroides,
mesalazina, mesalamina, sulfasalazina, derivados de
sulfasalazina, fármacos inmunosupresores, ciclosporina A,
mercaptopurina, azatiopurina, prednisona, metotrexato,
25 antihistamínicos, glucocorticoides, epinefrina, teofilina,
cromolin sódico, anti-leucotrienos, fármacos
anticolinérgicos para la rinitis, antagonistas de TLR,
inhibidores de inflammasoma, descongestionantes
anticolinérgicos, estabilizantes de los mastocitos,
30 anticuerpos monoclonales anti-IgE, vacunas (por ejemplo,
vacunas utilizadas para la vacunación donde la cantidad de
un alérgeno se incrementa gradualmente), inhibidores de las

citocinas, tales como anticuerpos anti-IL-6, inhibidores de TNF, tales como infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab o etanercept, y combinaciones de los mismos.

Administración

5 En determinados aspectos, en el presente documento se proporciona un método para administrar a un sujeto una composición farmacéutica descrita en el presente documento. En algunas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, la composición farmacéutica se
10 administra junto con la administración de un agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende VE de *Prevotella* y/o bacterias formuladas conjuntamente con el agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, la
15 composición farmacéutica se coadministra con el agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se administra al sujeto antes de la administración de la composición farmacéutica (por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25,
20 30, 35, 40, 45, 50 o 55 minutos antes, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 horas antes, o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días antes). En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se
25 administra al sujeto después de la administración de la composición farmacéutica (por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 o 55 minutos después, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o
30 23 horas después, o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días después). En algunas realizaciones, el mismo modo de administración se usa para

- administrar tanto la composición farmacéutica como el agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, se usan diferentes modos de administración para administrar la composición farmacéutica y el agente terapéutico adicional.
- 5 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra por vía oral mientras que el agente terapéutico adicional se administra mediante inyección (por ejemplo, una inyección intravenosa, intramuscular y/o intratumoral).
- 10 En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas, formas de dosificación y kits descritos en el presente documento pueden administrarse junto con cualquier otro tratamiento convencional contra el cáncer, tales como, por ejemplo, radioterapia y resección
- 15 quirúrgica del tumor. Estos tratamientos se pueden aplicar según sea necesario y/o según lo indicado y se puede hacer antes, junto con o después de la administración de las composiciones farmacéuticas, formas de dosificación y kits descritos en el presente documento.
- 20 El régimen de dosificación puede ser cualquiera de diversos métodos y cantidades, y lo puede determinar un experto en la técnica de acuerdo con factores clínicos conocidos. Como se conoce en las técnicas médicas, las dosis para cualquier paciente pueden depender de muchos
- 25 factores, incluyendo la especie del sujeto, el tamaño, el área de superficie corporal, la edad, el sexo, la inmunocompetencia y el estado de salud general, el microorganismo en particular que se va a administrar, la duración y la vía de administración, el tipo y el estadio
- 30 de la enfermedad, por ejemplo, el tamaño del tumor y otros compuestos, tales como fármacos, que se estén administrando al mismo tiempo. Además de los factores anteriores, tales

niveles pueden verse afectados por la capacidad de infección del microorganismo y la naturaleza del microorganismo, como puede determinar un experto en la técnica. En los métodos actuales, los niveles de dosificación mínimos adecuados de microorganismos pueden ser niveles suficientes para que el microorganismo sobreviva, crezca y se replique. La dosis de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede establecerse o ajustarse de manera apropiada de acuerdo con la forma de dosificación, la vía de administración, el grado o estadio de una enfermedad objetivo, y similares. Por ejemplo, la dosis eficaz general de los agentes puede oscilar entre 0.01 mg/kg de peso corporal/día y 1.000 mg/kg de peso corporal/día, entre 0.1 mg/kg de peso corporal/día y 1.000 mg/kg de peso corporal/día, 0.5 mg/kg de peso corporal/día y 500 mg/kg de peso corporal/día, 1 mg/kg de peso corporal/día y 100 mg/kg de peso corporal/día o entre 5 mg/kg de peso corporal/día y 50 mg/kg de peso corporal/día. La dosis eficaz puede ser de 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500 o 1.000 mg/kg peso corporal/día o más, pero la dosis no está limitada a estas.

En algunas realizaciones, la dosis administrada a un sujeto es suficiente para prevenir la enfermedad (por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias, enfermedad inflamatoria, enfermedad metabólica, cáncer), retrasar su inicio o disminuir o detener su progresión. Un experto en la técnica reconocerá que la dosificación dependerá de diversos factores, incluyendo la resistencia del compuesto en particular empleado, así como la edad, la especie, la afección y el peso corporal del sujeto. El tamaño de la dosis también vendrá determinado por la ruta, el tiempo y

la frecuencia de la administración, así como por la existencia, la naturaleza y grado de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar a la administración de un compuesto en particular y el efecto fisiológico deseado.

Las dosis y los regímenes de dosificación adecuados se pueden determinar mediante técnicas convencionales de búsqueda de intervalo conocidas por los expertos en la materia. En general, el tratamiento se inicia con dosificaciones más pequeñas, por debajo de la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, se aumenta la dosis en incrementos pequeños hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias dadas. Una dosis eficaz y un protocolo de tratamiento pueden determinarse por medios rutinarios y convencionales, comenzando, por ejemplo, con una dosis baja en animales de laboratorio y, a continuación, aumentando la dosis mientras se monitorizan los efectos, así como variando sistemáticamente el régimen de dosificación. Los estudios en animales se usan habitualmente para determinar la dosis máxima tolerable ("DMT") del agente bioactivo por kilogramo de peso. Los expertos en la técnica extrapolan regularmente la dosis para la eficacia, al tiempo que se evita la toxicidad, en otras especies, incluyendo seres humanos.

De acuerdo con lo anterior, en aplicaciones terapéuticas, las dosificaciones de los agentes activos usados de acuerdo con la invención varían dependiendo del agente activo, la edad, el peso y el estado clínico del paciente receptor, y la experiencia y criterio del médico o profesional que administra la terapia, entre otros factores que afectan a la dosificación seleccionada. En general, la dosis debe ser suficiente para provocar la ralentización y,

preferentemente, la regresión, del crecimiento de los tumores y, lo más preferiblemente, la regresión completa del cáncer.

Las administraciones separadas pueden incluir cualquier número de dos o más administraciones, incluyendo dos, tres, cuatro, cinco o seis administraciones. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente el número de administraciones que se deben realizar o la conveniencia de realizar una o más administraciones adicionales de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica para monitorizar los métodos terapéuticos y otros métodos de monitorización proporcionados en el presente documento. Por consiguiente, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen métodos para proporcionar al sujeto una o más administraciones de una composición farmacéutica, donde el número de administraciones puede determinarse monitorizando al sujeto y, según los resultados de la monitorización, determinando si se proporcionan o no una o más administraciones adicionales. La decisión de proporcionar o no una o más administraciones adicionales puede basarse en diversos resultados de la monitorización.

El período de tiempo entre las administraciones puede ser cualquiera de diversos períodos de tiempo. El período de tiempo entre las administraciones puede ser una función de cualquiera de diversos factores, incluyendo las etapas de monitorización, como se describe en relación con el número de administraciones, el período de tiempo para que un sujeto monte una respuesta inmunitaria y/o el período de tiempo para que un sujeto elimine la VE del tejido normal. En un ejemplo, el período de tiempo puede ser una función del período de tiempo para que un sujeto monte una respuesta inmunitaria; por ejemplo, el período de tiempo

puede ser más que el período de tiempo para que un sujeto monte una respuesta inmunitaria, tal como más de aproximadamente una semana, más de aproximadamente diez días, más de aproximadamente dos semanas o más de aproximadamente un mes; en otro ejemplo, el período de tiempo puede ser menor que el período de tiempo para que un sujeto monte una respuesta inmunitaria, tal como menos de aproximadamente una semana, menos de aproximadamente diez días, menos de aproximadamente dos semanas, o menos de aproximadamente un mes. En otro ejemplo, el período de tiempo puede ser una función del período de tiempo para que un sujeto elimine la VE del tejido normal; por ejemplo, el período de tiempo puede ser más que el período de tiempo para que un sujeto elimine la VE del tejido normal, tal como más de aproximadamente un día, más de aproximadamente dos días, más de aproximadamente tres días, más de aproximadamente cinco días o más de aproximadamente una semana.

En algunas realizaciones, la administración de un agente terapéutico adicional en combinación con la composición farmacéutica descrita en el presente documento reduce los efectos adversos y/o mejora la eficacia del agente terapéutico adicional.

La dosis eficaz de un agente terapéutico adicional descrito en el presente documento es la cantidad del agente terapéutico que es eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, la composición y el modo de administración, con la menor toxicidad para el paciente. El nivel de dosificación eficaz se puede identificar usando los métodos descritos en el presente documento y dependerá de diversos factores farmacocinéticos, incluida la actividad de las composiciones

en particular administradas, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto en particular empleado, la duración del tratamiento, otros fármacos, los compuestos y/o os
5 materiales usados en combinación con las composiciones en particular empleadas, la edad, el sexo, el peso, la afección, el estado de salud general y los antecedentes médicos del paciente que se está tratando, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. En
10 general, una dosis eficaz de una terapia adicional será la cantidad del agente terapéutico que sea la dosis más baja eficaz que produzca un efecto terapéutico. Tal dosis eficaz dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente.

15 La toxicidad de una terapia adicional es el nivel de efectos adversos experimentados por el sujeto durante y después del tratamiento. Los acontecimientos adversos asociados con la toxicidad de la terapia adicional incluyen, pero sin limitación, dolor abdominal, indigestion
20 gastrica, reflujo ácido, reacciones alérgicas, alopecia, anafilaxia, anemia, ansiedad, falta de apetito, artralgias, astenia, ataxia, azoemia, pérdida del equilibrio, dolor de huesos, sangrado, coágulos de sangre, hipotensión, hipertensión, dificultad para respirar, bronquitis,
25 hematomas, recuento bajo de glóbulos blancos, recuento bajo de glóbulos rojos, recuento bajo de plaquetas, cardiotoxicidad, cistitis, cistitis hemorrágica, arritmias, enfermedad de las válvulas cardíacas, miocardiopatía, arteriopatía coronaria, cataratas, neurotoxicidad central,
30 deterioro cognitivo, confusión, conjuntivitis, estreñimiento, tos, calambres, cistitis, trombosis venosa profunda, deshidratación, depresión, diarrea, mareos, boca

seca, piel seca, dispepsia, disnea, edema, desequilibrio electrolítico, esofagitis, fatiga, pérdida de fertilidad, fiebre, flatulencia, enrojecimiento, reflujo gastrico, enfermedad de reflujo gastroesofágico, dolor genital, 5 granulocitopenia, ginecomastia, glaucoma, caída del cabello, síndrome mano-pie, cefalea, pérdida de audición, insuficiencia cardíaca, palpitaciones del corazón, acidez, hematoma, cistitis hemorrágica, hepatotoxicidad, hiperamilasemia, hipercalcemia, hipercloremia, 10 hiperglucemia, hipercalcemia, hiperlipasemia, hipermagnesemia, hipernatremia, hiperfosfatemia, hiperpigmentación, hipertrigliceridemia, hiperuricemia, hipoalbuminemia, hipocalcemia, hipocloremia, hipoglucemia, hipocalemia, hipomagnesemia, hiponatremia, hipofosfatemia, 15 impotencia, infección, reacciones en el sitio de inyección, insomnio, deficiencia de hierro, picor, dolor articular, insuficiencia renal, leucopenia, disfunción hepática, pérdida de memoria, menopausia, aftas bucales, mucositis, dolor muscular, mialgias, mielosupresión, miocarditis, 20 fiebre neutropénica, náuseas, nefrotoxicidad, neutropenia, hemorragias nasales, entumecimiento, ototoxicidad, dolor, eritrodisestesia palmo-plantar, pancitopenia, pericarditis, neuropatía periférica, faringitis, fotofobia, fotosensibilidad, neumonía, neumonitis, proteinuria, 25 embolia pulmonar, fibrosis pulmonar, toxicidad pulmonar, exantema, latidos rápidos, hemorragia rectal, inquietud, rinitis, convulsiones, disnea, sinusitis, trombocitopenia, acúfenos, infección del tracto urinario, hemorragia vaginal, sequedad vaginal, vértigo, retención de agua, 30 debilidad, pérdida de peso, aumento de peso y xerostomía. En general, la toxicidad es aceptable si los beneficios para el sujeto logrados a través de la terapia superan a

los acontecimientos adversos experimentados por el sujeto debido a la terapia.

Trastornos inmuniarios

En algunas realizaciones, los métodos y composiciones
5 descritos en el presente documento se refieren al
tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno
asociado a una respuesta inmuntaria patológica, tal como
una enfermedad autoinmunitaria, una reacción alérgica y/o
una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, la
10 enfermedad o trastorno es una enfermedad inflamatoria
intestinal (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis
ulcerosa).

Los métodos descritos en el presente documento pueden
usarse para tratara cualquier sujeto que lo necesite. Como
15 se usa en el presente documento, un "sujeto que lo
necesita" incluye cualquier sujeto que tenga una enfermedad
o trastorno asociado con una respuesta inmunitaria
patológica (por ejemplo, una enfermedad inflamatoria del
intestino), así como a cualquier sujeto con una mayor
20 probabilidad de adquirir una enfermedad o trastorno de este
tipo.

Las composiciones descritas en el presente documento
pueden usarse, por ejemplo, como una composición
farmacéutica para prevenir o tratar (reducir, parcial o
25 completamente, los efectos adversos) una enfermedad
autoinmunitaria, tal como enfermedad inflamatoria
intestinal crónica, lupus eritematoso sistémico, psoriasis,
síndrome de Muckle-Wells, artritis reumatoide, esclerosis
múltiple o enfermedad de Hashimoto; una enfermedad
30 alérgica, tal como una alergia a los alimentos, polinosis o
asma; una enfermedad infecciosa, tal como una infección con
Clostridium difficile; una enfermedad inflamatoria, tal

como una enfermedad inflamatoria mediada por TNF (por ejemplo, una enfermedad inflamatoria del tracto gastrointestinal, tal como pouchitis, una afección inflamatoria cardiovascular, tal como aterosclerosis, o una
5 enfermedad pulmonar inflamatoria, tal como enfermedad pulmonar obstructiva crónica); una composición farmacéutica para suprimir el rechazo en el trasplante de órganos u otras situaciones en las que puede producirse el rechazo del tejido; un suplemento, alimento o bebida para mejorar
10 las funciones inmunitarias; o un reactivo para suprimir la proliferación o función de las células inmunitarias.

En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento son útiles para el tratamiento de la inflamación. En determinadas realizaciones, la
15 inflamación de cualquier tejido y órgano del cuerpo, incluyendo inflamación musculoesquelética, inflamación vascular, inflamación neural, inflamación del sistema digestivo, inflamación ocular, inflamación del sistema reproductor y otro tipo de inflamación, como se trata a
20 continuación.

Los trastornos inmunitarios del sistema musculoesquelético incluyen, aunque sin limitación, las afecciones que afectan a las articulaciones esqueléticas, incluidas las articulaciones de la mano, la muñeca, el
25 codo, el hombro, la mandíbula, la columna vertebral, el cuello, la cadera, la rodilla, el tobillo y el pie, y afecciones que afectan a los tejidos que conectan los músculos a los huesos, tales como los tendones. Ejemplos de tales trastornos inmunitarios, que pueden tratarse con los
30 métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, artritis (incluyendo, por ejemplo, artrosis, artritis reumatoide, artritis

psoriásica, espondilitis anquilosante, artritis infecciosa aguda y crónica, artritis asociada a gota y pseudogota, y artritis idiopática juvenil), tendinitis, sinovitis, tenosinovitis, bursitis, fibrositis (fibromialgia),
5 epicondilitis, miositis y osteitis (incluyendo, por ejemplo, enfermedad de Paget, osteitis del pubis y osteítis fibrosa quística).

Los trastornos inmunitarios oculares se refieren a un trastorno inmunitario que afecta a cualquier estructura del
10 ojo, incluidos los párpados. Los ejemplos de trastornos inmunitarios oculares que se pueden tratar con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, blefaritis, blefarocalasia, conjuntivitis, dacrioadenitis, queratitis,
15 queratoconjuntivitis seca (sequedad del ojo), escleritis, triquiasis y uveítis

Los ejemplos de trastornos inmunitarios del sistema nervioso que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen,
20 pero sin limitación, encefalitis, síndrome de Guillain-Barre, meningitis, neuromiotonía, narcolepsia, esclerosis múltiple, mielitis y esquizofrenia. Los ejemplos de inflamación de la vasculatura o el sistema linfático que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos
25 en el presente documento incluyen, pero sin limitación, artrosclerosis, artritis, flebitis, vasculitis y linfangitis.

Los ejemplos de trastornos inmunitarios del sistema digestivo que pueden tratarse con los métodos y
30 composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, colangitis, colecistitis, enteritis, enterocolitis, gastritis, gastroenteritis, enfermedad

inflamatoria del intestino, ileítis y proctitis. Las enfermedades inflamatorias del intestino incluyen, por ejemplo, ciertas formas reconocidas en el técnica de un grupo de afecciones relacionadas. Se conocen varias formas principales de enfermedades inflamatorias del intestino, siendo la enfermedad de Crohn (enfermedad intestinal regional, por ejemplo, formas inactivas y activas) y la colitis ulcerosa (por ejemplo, formas inactivas y activas) los más frecuentes de estos trastornos. Además, la enfermedad inflamatoria del intestino abarca el síndrome del intestino irritable, colitis microscópica, enteritis linfocítica-plasmocítica, enfermedad celíaca, colitis collagenosa, colitis linfocítica y enterocolitis eosinofílica. Otras formas menos frecuentes de EII incluyen colitis indeterminada, colitis pseudomembranosa (colitis necrotizante), enfermedad inflamatoria intestinal isquémica, enfermedad de Behcet, sarcoidosis, esclerodermia, displasia asociada a EII, displasia asociada a masas o lesiones, y colangitis esclerosante primaria.

Los ejemplos de trastornos inmunitarios del sistema reproductor que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, cervicitis, corioamnionitis, endometritis, epididimitis, omfalitis, ooforitis, orquitis, salpingitis, absceso tubo-ovárico, uretritis, vaginitis, vulvitis y vulvodinia.

Los métodos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para tratar afecciones autoinmunitarias que tienen un componente inflamatorio. Dichas afecciones incluyen, pero sin limitación, alopecia diseminada aguda universalizada, enfermedad de Behcet, enfermedad de Chagas, síndrome de fatiga crónica,

disautonomía, encefalomielitis, espondilitis anquilosante, anemia aplásica, hidradenitis supurativa, hepatitis autoinmunitaria, ooforitis autoinmunitaria, enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, diabetes mellitus de tipo 1, 5 arteritis de células gigantes, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, púrpura de Henoch-Schonlein, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso, colitis microscópica, poliarteritis microscópica, enfermedad del 10 tejido conjuntivo mixto, síndrome de Muckle- Wells, esclerosis múltiple, miastenia grave, síndrome de opsoclonía-mioclonía, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo, poliarteritis nodosa, polimialgia, artritis reumatoide, síndrome de Reiter, síndrome de Sjögren, 15 arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, anemia hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes, cistitis intersticial, enfermedad de Lyme, morfea, psoriasis, sarcoidosis, esclerodermia, colitis ulcerosa y vitíligo.

20 Los métodos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para tratar enfermedades de hipersensibilidad mediadas por células T que tienen un componente inflamatorio. Dichas afecciones incluyen, pero sin limitación, hipersensibilidad de contacto, dermatitis 25 de contacto (incluyendo la producida por la hiedra venenosa), urticaria, alergias cutáneas, alergias respiratorias (fiebre del heno, rinitis alérgica, alergia al polvo de la casa) y enteropatía sensible al gluten (enfermedad celíaca).

30 Otros trastornos inmunitarios que pueden tratarse con los métodos y composiciones incluyen, por ejemplo, apendicitis, dermatitis, dermatomiositis, endocarditis,

fibrositis, gingivitis, glositis, hepatitis, hidradenitis supurativa, iritis, laringitis, mastitis, miocarditis, nefritis, otitis, pancreatitis, parotiditis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, neumonitis, 5 prostatitis, pielonefritis y estomatitis, rechazo de trasplantes (incluyendo órganos tales como riñón, hígado, corazón, de pulmón, páncreas (por ejemplo, células de los islotes), médula ósea, córnea, intestino delgado, aloinjertos de piel, homoinjertos de piel y xenoinjertos de 10 válvulas cardíacas, enfermedad del suero y enfermedad de injerto contra huésped), pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda, síndrome de Sezary, hiperplasia suprarrenal congénita, tiroiditis no supurativa, hipercalcemia asociada al cáncer, pénfigo, 15 dermatitis bullosa herpetiforme, eritema multiforme grave, dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, rinitis alérgica estacional o perenne, asma bronquial, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, reacciones de hipersensibilidad a fármacos, conjuntivitis alérgica, 20 queratitis, herpes zóster oftálmico, iritis y oiridociclitis, coriorretinitis, neuritis óptica, sarcoidosis sintomática, quimioterapia para la tuberculosis pulmonar fulminante o diseminada, púrpura trombocitopénica idiopática en adultos, trombocitopenia secundaria en 25 adultos, anemia hemolítica (autoinmunitaria) adquirida, leucemia y linfomas en adultos, leucemia aguda de la infancia, enteritis regional, vasculitis autoinmunitaria, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rechazo al trasplante de órganos sólidos, 30 septicemia. Entre los tratamientos preferentes se incluyen el tratamiento de los rechazos de trasplantes, artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple,

diabetes de tipo 1, asma, enfermedad inflamatoria del intestino, lupus sistémico eritematoso, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica e inflamación que acompaña a las afecciones infecciosas (por ejemplo, 5 septicemia).

Trastornos metabólicos

Los métodos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para tratar trastornos metabólicos y síndromes metabólicos. Dichas afecciones incluyen, pero 10 sin limitación, diabetes de tipo II, encefalopatía, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Krabbe, galactosemia, fenilcetonuria (PKU) y enfermedad de la orina de jarabe de arce. Por consiguiente, en ciertas realizaciones del presente documento se proporcionan 15 métodos para tratar una enfermedad metabólica, que comprenden administrar a un sujeto una composición proporcionada en el presente documento. En algunas realizaciones, la enfermedad metabólica es diabetes de tipo II, encefalopatía, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de 20 Krabbe, galactosemia, fenilcetonuria (PKU) o enfermedad de la orina de jarabe de arce.

Cáncer

En algunas realizaciones, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se refieren al 25 tratamiento del cáncer. En algunas realizaciones, cualquier cáncer puede tratarse usando los métodos descritos en el presente documento. Los ejemplos de cánceres que pueden tratarse mediante métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, células 30 cancerosas de la vejiga, la sangre, los huesos, la médula ósea, el cerebro, la mama, el colon, el esófago, el tracto gastrointestinal, las encías, la cabeza, de riñón, hígado,

el pulmón, la nasofaringe, el cuello, los ovarios, la próstata, la piel, el estómago, los testículos, la lengua o el útero. Además, el cáncer puede ser específicamente del siguiente tipo histológico, aunque sin limitaciones a

5 estos: neoplasia, maligno; carcinoma; carcinoma, indiferenciado; carcinoma de células fusiformes y gigantes; carcinoma microcítico; carcinoma papilar; carcinoma de células escamosas; carcinoma linfoepitelial; carcinoma de células basales; carcinoma pilomatricial; carcinoma de

10 células transicionales; carcinoma papilar de células transicionales; adenocarcinoma; gastrinoma, maligno; colangiocarcinoma; carcinoma hepatocelular; carcinoma hepatocelular combinado y colangiocarcinoma; adenocarcinoma trabecular; carcinoma adenoide quístico; adenocarcinoma en

15 pólipo adenomatoso; adenocarcinoma, poliposis coli familiar; carcinoma sólido; tumores carcinoides, maligno; adenocarcinoma bronquiolo-alveolar; adenocarcinoma papilar; carcinoma cromóforo; carcinoma acidófilo; adenocarcinoma oxifílico; carcinoma basófilo; adenocarcinoma de células

20 claras; carcinoma de células granulares; adenocarcinoma folicular; adenocarcinoma papilar y folicular; carcinoma esclerosante no encapsulante; carcinoma suprarrenal cortical; carcinoma endometroide; carcinoma de apéndice cutáneo; adenocarcinoma apocrino; adenocarcinoma sebáceo;

25 adenocarcinoma ceruminoso; carcinoma mucoepidermoide; cistadenocarcinoma; cistadenocarcinoma papilar; cistadenocarcinoma seroso papilar; cistadenocarcinoma mucinoso; adenocarcinoma mucinoso; carcinoma de células de anillo de sello; carcinoma ductal infiltrante; carcinoma

30 medular; carcinoma lobulillar; carcinoma inflamatorio; enfermedad de Paget, mamario; carcinoma de células acinares; carcinoma adenoescamoso; adenocarcinoma con

metaplasia escamosa; timoma, maligno; tumor del estroma
ovárico, maligno; tecoma, maligno; tumor de células de la
granulosa, maligno; y roblastoma, maligno; carcinoma de
células de Sertoli; tumor de células de Leydig, maligno;
5 tumor de células lipídicas, maligno; paraganglioma,
maligno; paraganglioma extramamario, maligno;
feocromocitoma; glomangiosarcoma; melanoma maligno;
melanoma amelanótico; melanoma de diseminación superficial;
melanoma maligno en el nevo gigante pigmentado; melanoma de
10 células epitelioides; nevo azul, maligno; sarcoma;
fibrosarcoma; histiocitoma fibroso, maligno; mixosarcoma;
liposarcoma; leiomiosarcoma; rabdomiosarcoma;
rabdomiosarcoma embrionario; rabdomiosarcoma alveolar;
sarcoma estromal; tumor mixto, maligno; tumor mixto de
15 Müller; nefroblastoma; hepatoblastoma; carcinosarcoma;
mesenquimoma, maligno; tumor de Brenner, maligno; tumor
phyllodes, maligno; sarcoma sinovial; mesotelioma, maligno;
disgerminoma; carcinoma embrionario; teratoma, maligno;
struma ovarii, maligno; coriocarcinoma; mesonefoma,
20 maligno; hemangiosarcoma; hemangioendotelioma, maligno;
sarcoma de Kaposi; hemangiopericitoma, maligno;
linfangiosarcoma; osteosarcoma; osteosarcoma yuxtacortical;
condrosarcoma; condroblastoma, maligno; condrosarcoma
mesenquimatoso; tumor óseo de células gigantes; sarcoma de
25 Ewing; tumor odontogénico, maligno; odontosarcoma
ameloblástico; ameloblastoma, maligno; fibrosarcoma
ameloblástico; pinealoma, maligno; cordoma; glioma,
maligno; ependimoma; astrocitoma; astrocitoma
protoplasmático; astrocitoma fibrilar; astroblastoma;
30 glioblastoma; oligodendroglioma; oligodendroblastoma;
neuroectodérmico primitivo; sarcoma cerebeloso;
ganglioneuroblastoma; neuroblastoma; retinoblastoma; tumor

neurogénico olfativo; meningioma, maligno; neurofibrosarcoma; neurilemoma, maligno; tumor de células granulares, maligno; linfoma maligno; enfermedad de Hodgkin; linfoma de Hodgkin; paragranuloma; linfoma maligno
5 linfocítico pequeño; linfoma maligno difuso de células grandes; linfoma maligno, folicular; micosis fungoide; otros linfomas no Hodgkin especificados; histiocitosis maligna; mieloma múltiple; sarcoma de mastocitos; enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado;
10 leucemia; leucemia linfoide; leucemia de células plasmáticas; eritroleucemia; leucemia de células de linfosarcoma; leucemia mieloide; leucemia basófila; leucemia eosinofílica; leucemia monocítica; leucemia mastocítica; leucemia megacarioblástica; sarcoma mieloide;
15 y tricoleucemia.

En algunas realizaciones, los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento se refieren al tratamiento de una leucemia. El término "leucemia" significa enfermedades malignas ampliamente progresiva de
20 los órganos/sistemas hematopoyéticos y generalmente se caracteriza por una proliferación y desarrollo distorsionados de los leucocitos y sus precursores en la sangre y la médula ósea. Ejemplos no limitantes de enfermedades de leucemia incluyen, leucemia no linfocítica
25 aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia granulocítica crónica, leucemia promielocítica aguda, leucemia/linfoma de linfocitos T del adulto, leucemia aleucémica, leucemia leucocitémica, leucemia basófila, leucemia de citoblastos, leucemia
30 bovina, leucemia mielocítica crónica, leucemia cutis, leucemia embrionaria, leucemia eosinofílica, leucemia de Gross, leucemia de células de Rieder, leucemia de

Schilling, leucemia de células madre, leucemia subleucémica, leucemia celular indiferenciada, tricoleucemia, leucemia hemoblástica, leucemia hemocitoblástica, leucemia histiocítica, leucemia de 5 células madre, leucemia monocítica aguda, leucemia leucopénica, leucemia linfática, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia linfógena, leucemia linfoide, leucemia de células de linfosarcoma, leucemia mastocítica, leucemia megacariocítica, leucemia 10 micromieloblástica, leucemia monocítica, leucemia mieloblástica, leucemia mielocítica, leucemia mieloide granulocítica, leucemia mielomonocítica, leucemia de Naegeli, leucemia de células plasmáticas, leucemia plasmocítica y leucemia promielocítica.

15 En algunas realizaciones, los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento se refieren al tratamiento de un carcinoma. El término "carcinoma" se refiere a un crecimiento maligno formado por células 20 epiteliales que tienden a infiltrarse en los tejidos circundantes y/o a resistir las señales de muerte celular fisiológicas y no fisiológicas y da lugar a metástasis. Los tipos de ejemplo no limitativos de carcinomas incluyen, carcinoma acinar, carcinoma acinoso, carcinoma 25 adenoquístico, carcinoma adenoideo quístico, carcinoma adenomatoso, carcinoma de corteza suprarrenal, carcinoma alveolar, carcinoma de células alveolares, carcinoma de células basales, carcinoma basocelular, carcinoma basaloide, carcinoma de células basoescamosas, carcinoma bronquioalveolar, carcinoma bronquiolar, carcinoma 30 broncogénico, carcinoma cerebriforme, carcinoma colangiocelular, carcinoma coriónico, carcinoma coloidal, comedocarcinoma, carcinoma endométrico, carcinoma

cribiforme, carcinoma en coraza, carcinoma cutáneo,
carcinoma cilíndrico, carcinoma de células cilíndricas,
carcinoma ductal, carcinoma duro, carcinoma embrionario,
carcinoma encefaloide, carcinoma epienoide, carcinoma
5 epitelial adenoides, carcinoma exofítico, carcinoma ex
ulcere, carcinoma fibroso, carcinoma gelatiniforme,
carcinoma gelatinoso, carcinoma de células gigantes,
carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma simple,
carcinoma microcítico, carcinoma solanoide, carcinoma de
10 células esferoides, carcinoma de células fusiformes,
carcinoma esponjoso, carcinoma escamoso, carcinoma de
células escamosas, carcinoma ganglionar, carcinoma
telangiectático, carcinoma telangiectodes, carcinoma de
células transicionales, carcinoma tuberoso, carcinoma
15 tuberoso, carcinoma verrugoso, carcinoma vellosos, carcinoma
de células gigantes, carcinoma glandular, carcinoma de
células granulosas, carcinoma de matriz pilosa, carcinoma
hematoide, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células de
Hurthle, carcinoma hialino, carcinoma hipernefroide,
20 carcinoma embrionario infantil, carcinoma in situ,
carcinoma intraepidérmico, carcinoma intraepitelial,
carcinoma de Krompecher, carcinoma de células de
Kulchitzky, carcinoma macrocítico, carcinoma lenticular,
carcinoma lenticulare, carcinoma lipomatoso, carcinoma
25 linfoepitelial, *carcinoma medullare*, carcinoma medular,
carcinoma melanótico, carcinoma molle, carcinoma mucinoso,
carcinoma mucoso, carcinoma mucocelular, carcinoma
mucoepidermoide, *carcinoma mucosum*, carcinoma mucoso,
carcinoma mixomatodes, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma de
30 células en avena, carcinoma osificante, carcinoma osteoide,
carcinoma papilar, carcinoma periportal, carcinoma
preinvasivo, carcinoma de células espinosas, carcinoma

pultáceo, carcinoma de células renales del riñón, carcinoma de células de reserva, carcinoma sarcomatoides, carcinoma schneideriano, carcinoma escirroso y carcinoma del escroto.

En algunas realizaciones, los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento se refieren al tratamiento de un sarcoma. El término "sarcoma" generalmente se refiere a un tumor que se compone de una sustancia como el tejido conjuntivo embrionario y generalmente se compone de células muy concentradas incrustadas en una sustancia fibrilar, heterogénea u homogénea. Los sarcomas incluyen, pero sin limitación, condrosarcoma, fibrosarcoma, linfomasarcoma, melanosarcoma, mixosarcoma, osteosarcoma, sarcoma endometrial, sarcoma estromal, sarcoma de Ewing, sarcoma fascial, sarcoma fibroblástico, sarcoma de células gigantes, sarcoma de Abemethy, sarcoma adiposo, liposarcoma, sarcoma alveolar de las partes blandas, sarcoma amelobástico, sarcoma botrioide, cloroma sarcoma, carcinoma coriónico, sarcoma embrionario, sarcoma del tumor de Wilms, sarcoma granulocítico, sarcoma Hodgkin, sarcoma hemorrágico pigmentado múltiple idiopático, sarcoma inmunoblástico de linfocitos B, linfoma, sarcoma inmunoblástico de linfocitos T, sarcoma de Jensen, sarcoma de Kaposi, sarcoma de células de Kupffer, angiosarcoma, leucosarcoma, sarcoma mesenquimoma maligno, sarcoma parosteal, sarcoma reticulocítico, sarcoma de Rous, sarcoma cerocístico, sarcoma sinovial y sarcoma telangiectásico.

Las neoplasias ilustrativas adicionales que se pueden tratar usando los métodos y las composiciones descritas en el presente documento incluyen la enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón,

rabdomiosarcoma, trombocitosis primaria, macroglobulinemia primaria, tumores pulmonares microcíticos, tumores cerebrales primarios, cáncer de estómago, cáncer de colon, insulinoma pancreático maligno, carcinoide maligno, 5 lesiones cutáneas precancerosas, cáncer de testículos, linfomas, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de esófago, cáncer del tracto genitourinario, hipercalcemia maligna, cáncer de cuello uterino, cáncer del endometrio, plasmacitoma, cáncer colorrectal, cáncer rectal, carcinoma 10 de células de Merkel, carcinoma de glándula salival y cáncer cortical suprarrenal.

En algunas realizaciones, el cáncer tratado es un melanoma. Se entiende que el término "melanoma" significa un tumor que surge del sistema melanocítico de la piel y 15 otros órganos. Los ejemplos no limitantes de melanomas son melanoma Harding-Passey, melanoma juvenil, léntigo, melanoma maligno, melanoma maligno, melanoma acral-lentiginoso, melanoma amelanocítico, melanoma juvenil benigno, melanoma de Cloudman, melanoma S91, melanoma 20 nodular, melanoma subungular y melanoma de extensión superficial.

Las categorías particulares de tumores que pueden tratarse usando métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen trastornos linfoproliferativos, 25 cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino, cáncer del endometrio, cáncer de huesos, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer pancreático, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer del sistema nervioso central, 30 cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer de piel, cáncer de riñón, así como metástasis de todos los anteriores. Los tipos particulares de tumores incluyen

carcinoma hepatocelular, hepatoma, hepatoblastoma, rabdomiosarcoma, carcinoma esofágico, carcinoma de tiroides, ganglioblastoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, tumor de Ewing, leimiosarcoma, rhabdoteliosarcoma, carcinoma ductal invasivo, adenocarcinoma papilar, melanoma, carcinoma pulmonar de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma (bien diferenciado, moderadamente diferenciado, escasamente diferenciado o indiferenciado), carcinoma bronquioloalveolar, carcinoma de células renales, hipernefoma, adenocarcinoma hipernefroide, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, tumor testicular, carcinoma de pulmón, incluyendo carcinoma de microcítico, no microcítico y macrocítico, carcinoma de vejiga, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, retinoblastoma, neuroblastoma, carcinoma de colon, carcinoma rectal, neoplasias hematopoyéticas, incluyendo todos los tipos de leucemia y linfoma, incluidos: leucemia mielógena aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia mastocítica, mieloma múltiple, linfoma mieloide, linfoma de Hodgkin, , plasmacitoma, cáncer colorrectal, cáncer rectal, carcinoma de células de Merkel, carcinoma de las glándulas salivales, linfoma no Hodgkin.

Los cánceres tratados en ciertas realizaciones también incluyen lesiones precancerosas, *por ejemplo*, queratosis actínica (queratosis solar), lunares (nevos displásicos), quelitis acitínica (labio del granjero), cuernos cutáneos, esófago de Barrett, gastritis atrófica, disqueratosis

congénita, disfagia sideropénica, líquen plano, fibrosis submucosa oral, elastosis actínica (solar) y displasia cervical.

Los cánceres tratados en algunas realizaciones
5 incluyen tumores benignos o no cancerosos, *por ejemplo*, de origen endodérmico, ectodérmico o mesenquimatoso, incluidos, pero sin limitaciones, colangioma, pólipo colónico, adenoma, papiloma, cistadenoma, adenoma de células hepáticas, mola hidatidiforme, adenoma tubular
10 renal, papiloma de células escamosas, pólipo gástrico, hemangioma, osteoma, condroma, lipoma, fibroma, linfangioma, leiomioma, rabdomioma, astrocitoma, nevo, meningioma y ganglioneuroma.

Otras enfermedades y trastornos

15 En algunas realizaciones, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se refieren al tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), colangitis esclerosante primaria (PSC) y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). En algunas
20 realizaciones, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se refieren al tratamiento de enfermedades hepáticas. Dichas afecciones incluyen, pero sin limitación, síndrome de Alagille, enfermedad hepática relacionada con el alcohol, deficiencia de alfa-1
25 antitripsina, hepatitis autoinmunitaria, tumores hepáticos benignos, atresia biliar, cirrosis, galactosemia, síndrome de Gilbert, hemocromatosis, hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, encefalopatía hepática, colestasis intrahepática del embarazo (PIC), deficiencia de lipasa
30 ácida lisosomal (LAL-D), quistes hepáticos, cáncer de hígado, ictericia del neonato, enfermedad del hígado graso no alcohólico, colangitis biliar primaria (PBC), colangitis

esclerosante primaria (PSC), síndrome de Reye, enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo I y enfermedad de Wilson.

Los métodos y composiciones descritos en el presente documento se pueden usar para tratar enfermedades neurodegenerativas y neurológicas. En determinadas realizaciones, la enfermedad neurodegenerativa y/o neurológica es la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad priónica, enfermedad de Huntington, enfermedades de las neuronas motoras (MND), ataxia espinocerebelosa, atrofia muscular espinal, distonía, hipertensión intracraneal idiopática, epilepsia, enfermedad del sistema nervioso, enfermedad del sistema nervioso central, trastornos del movimiento, esclerosis múltiple, encefalopatía, neuropatía periférica y disfunción cognitiva postoperatoria.

Métodos para producir bacterias *Prevotella* mejoradas

En determinados aspectos, en el presente documento se proporcionan métodos para fabricar bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente para la producción de las VE descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente se modifican para mejorar ciertas propiedades deseables. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente se modifican para aumentar la producción de VE por las bacterias *Prevotella*. En algunas realizaciones, las bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente se modifican para producir VE con administración oral mejorada (por ejemplo, mejorando la resistencia a los ácidos y/o la resistencia a los ácidos biliares), para mejorar el efecto inmunomodulador y/o terapéutico de las VE que producen (por

ejemplo, solas o en combinación con otro agente terapéutico), para mejorar la activación inmunitaria por las VE que producen y/o para mejorar la fabricación de bacterias *Prevotella* y/o VE (por ejemplo, mayor tolerancia al oxígeno, tolerancia mejorada a la congelación-descongelación, tiempos de generación más cortos). Las bacterias *Prevotella* modificadas genéticamente se pueden producir usando cualquier técnica conocida en la materia, incluyendo, pero sin limitación, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis por transposón, desactivaciones, inserciones, mutagénesis por reacción en cadena de la polimerasa, mutagénesis química, mutagénesis por luz ultravioleta, transformación (químicamente o por electroporación), transducción de fagos, evolución dirigida, CRISPR/Cas9 o cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, las bacterias *Prevotella* se modifican por evolución dirigida. En algunas realizaciones, la evolución dirigida comprende la exposición de la bacteria *Prevotella* a una condición ambiental y la selección de la bacteria *Prevotella* con una mejor supervivencia y/o crecimiento en condiciones ambientales. En algunas realizaciones, el método comprende una selección de bacterias *Prevotella* mutagenizadas usando un ensayo que identifica bacterias *Prevotella* mejoradas. En algunas realizaciones, el método comprende además mutagenizar las bacteria *Prevotella* (por ejemplo, por exposición a mutágenos químicos y/o radiación UV) seguido de un ensayo para detectar bacterias *Prevotella* que tienen el fenotipo deseado (por ejemplo, un ensayo *in vivo*, un ensayo *ex vivo* o un ensayo *in vitro*).

En algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* proporcionada en el presente documento se modifica por exposición a un entorno inductor de estrés (por ejemplo, un ambiente que induce tensión de la cubierta). En algunas realizaciones, el crecimiento en tales condiciones de crecimiento aumenta la producción de VE por la bacteria *Prevotella*. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la bacteria *Prevotella* se cultiva en presencia de concentraciones subinhibitorias de un antibiótico descrito en el presente documento (por ejemplo, 0.1-1 µg/ml de cloranfenicol o 0.1-0.3 µg/ml de gentamicina). En algunas realizaciones, los péptidos antimicrobianos del huésped (por ejemplo, lisozima, defensinas y proteínas Reg) se usan en lugar de o en combinación con antibióticos. En algunas realizaciones, los péptidos antimicrobianos producidos por bacterias *Prevotella* (por ejemplo, bacteriocinas y microcinas de *Prevotella*). En algunas realizaciones, el estrés es el estrés por la temperatura (por ejemplo, crecimiento a 37-50 °C). En algunas realizaciones, el estrés es estrés por limitación de carbono (por ejemplo, crecimiento en un medio que comprende fuentes de carbono limitadas, tales como medios con fuente de carbono restringida por debajo del 1 % (p/v)). En algunas realizaciones, el estrés es estrés salino (por ejemplo, crecimiento en un medio que contiene NaCl 0.5 M). En algunas realizaciones, el estrés es estrés por UV (por ejemplo, crecimiento bajo una lámpara UV, ya sea durante todo el período de cultivo o solo durante una parte del período de cultivo). En algunas realizaciones, el estrés es estrés por oxígeno reactivo (por ejemplo, crecimiento en medios que contienen concentraciones subinhibitorias de peróxido de hidrógeno, tales como peróxido de hidrógeno

250-1.000 μM). En algunas realizaciones, una combinación de los estrés descritos en el presente documento se aplica a la bacteria *Prevotella*.

EJEMPLOS

5 **Ejemplo 1: Preparación y purificación de VE de bacterias *Prevotella*.**

Las vesículas extracelulares (VE) se preparan a partir de cultivos bacterianos de *Prevotella* usando métodos conocidos por los expertos en la técnica (S. Bin Park, y
10 col., PLoS ONE. 6(3):e17629 (2011)).

Por ejemplo, Los cultivos bacterianos de *Prevotella* se centrifugan a 11.000 x g durante 20-40 min a 4 °C para sedimentar las bacterias. Los sobrenadantes de los cultivos se pasan luego a través de un filtro de 0.22 μm para
15 excluir las células bacterianas intactas. Los sobrenadantes filtrados se concentran usando métodos que pueden incluir, pero sin limitación, precipitación en sulfato amónico, ultracentrifugación o filtración. En resumen, para la precipitación en sulfato amónico, se añade sulfato amónico
20 1.5-3 M al sobrenadante filtrado lentamente, mientras se agita a 4°C. Las precipitaciones se incuban a 4 °C durante 8-48 horas y luego se centrifugan a 11.000 x g durante 20-40 min a 4 °C. Los sedimentos contienen VE bacterianas y otros desechos. En resumen, utilizando ultracentrifugación,
25 los sobrenadantes filtrados se centrifugan a 100.000-200.000 x g durante 1-16 horas a 4 °C. El sedimento de esta centrifugación contiene VE bacterianas y otros desechos. En resumen, usando una técnica de filtración, utilizando un filtro de giro Amicon Ultra o mediante filtración de flujo
30 tangencial, los sobrenadantes se filtran para retener especies de peso molecular > 50 o 100 kDa.

Como alternativa, las VE se obtienen de cultivos

bacterianos de *Prevotella* continuamente durante el crecimiento, o en puntos de tiempo seleccionados durante el crecimiento, conectando un biorreactor a un sistema de flujo tangencial alterno (ATF) (por ejemplo, XCell ATF de Repligen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El sistema ATF retiene las células intactas ($> 0.22 \mu\text{m}$) en el biorreactor y permite componentes más pequeños (por ejemplo, VE, proteínas libres) pasen a través de un filtro para la recolección. Por ejemplo, el sistema puede configurarse de modo que el filtrado de $< 0.22 \mu\text{m}$ pase a través de un segundo filtro de 100 kDa, permitiendo recolectar especies tales como VE entre $0.22 \mu\text{m}$ y 100 kDa, y que especies de menos de 100 kDa sean bombeadas nuevamente al biorreactor. Como alternativa, el sistema puede configurarse para permitir que el medio en el biorreactor se reponga y/o modifique durante el crecimiento del cultivo. Las VE recogidas por este método se pueden purificar y/o concentrar adicionalmente mediante ultracentrifugación o filtración, como se ha descrito anteriormente para los sobrenadantes filtrados.

Las VE obtenidas mediante los métodos descritos anteriormente pueden purificarse adicionalmente mediante ultracentrifugación en gradiente, usando métodos que pueden incluir, pero sin limitación, el uso de un gradiente de sacarosa o un gradiente Optiprep. En resumen, usando un método de gradiente de sacarosa, si se utilizó precipitación con sulfato amónico o ultracentrifugación para concentrar los sobrenadantes filtrados, los sedimentos se resuspenden en sacarosa al 60 %, Tris 30 mM, a pH 8.0. Si se usó filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, el concentrado se intercambia con tampón en sacarosa al 60 %, Tris 30 mM, pH 8.0, usando una columna

Amicon Ultra. Las muestras se aplican a un gradiente de sacarosa discontinuo del 35-60 % y se centrifugan a 200.000 x g durante 3-24 horas a 4 °C. Brevemente, utilizando un método de gradiente Optiprep, si se utilizó precipitación
5 con sulfato amónico o ultracentrifugación para concentrar los sobrenadantes filtrados, los sedimentos se resuspenden en Optiprep al 35 % en PBS. Si se usó filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, el concentrado se diluye usando Optiprep al 60 % hasta una concentración
10 final de Optiprep al 35 %. Las muestras se aplican a un gradiente de sacarosa discontinuo del 35-60 % y se centrifugan a 200.000 x g durante 3-24 horas a 4 °C.

Para confirmar la esterilidad y el aislamiento de las preparaciones de VE, las VE se diluyen en serie en un medio
15 de agar utilizado para el cultivo de rutina de las bacterias *Prevotella* que se están probando, y se incuban usando condiciones de rutina. Las preparaciones no estériles se pasan a través de un filtro de 0.22 µm para excluir las células intactas. Para aumentar aún más la
20 pureza, las VE aislados pueden tratarse con ADNasa o proteinasa K.

Como alternativa, para la preparación de VE usadas para inyecciones *in vivo*, las VE purificadas se procesan como se ha descrito anteriormente (G. Norheim, et al. 10
25 (9): e0134353 (2015)). En resumen, después de la centrifugación en gradiente de sacarosa, las bandas que contienen VE se resuspenden hasta una concentración final de 50 µg/ml en una solución que contiene sacarosa al 3 % u otra solución adecuada para inyección I conocida por los
30 expertos en la técnica. Esta solución también puede contener adyuvante, por ejemplo, hidróxido de aluminio a una concentración de 0-0.5 % (p/v).

Para hacer que las muestras sean compatibles con pruebas adicionales (por ejemplo, para eliminar la sacarosa antes de la obtención de imágenes TEM o ensayos *in vitro*), las muestras se intercambian con tampón en PBS o Tris 30 mM, pH 8.0 utilizando filtración (por ejemplo, columnas Amicon Ultra), diálisis o ultracentrifugación (200.000 x g, ≥ 3 horas, 4°C) y resuspensión.

Ejemplo 2: Macaje de VE bacterianas

Con el fin de rastrear su biodistribución *in vivo* y cuantificarlas y localizarlas *in vitro* en varias preparaciones y en ensayos realizados con células de mamíferos, las VE se marcan como se ha descrito anteriormente (N. Kesty, y col., EMBO Journal. 23: 4538-4549 (2004)).

Por ejemplo, Las VE purificadas se incuban con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Sigma-Aldrich, EE.UU.), Cy7 o cualquier otro fluorocromo adecuado para citometría de flujo, 1:1 durante 1 hora a 25 °C. La etapa de incubación puede extenderse durante la noche a 4 °C. Para eliminar el fluorocromo adicional, A continuación, las VE se sedimentan (1) mediante centrifugación a 200.000 x g durante 3 horas durante la noche, se lavan y se resuspenden en PBS u otro tampón apropiado para aplicaciones posteriores; o (2) tampón intercambiado en PBS u otro tampón apropiado para aplicaciones aguas abajo por diálisis o por filtración (por ejemplo, usando una columna Amicon Ultra).

Como alternativa, las VE se obtienen a partir de bacterias *Prevotella* cultivadas en medio que contiene 3-azido-D-alanina o HADA 0.8 mM. Las VE se resuspenden o se intercambia el tampón en PBS y una porción se marca adicionalmente con colorante fluorescente Dibenzo-aza-

ciclooctileno (DIBAC) 10 UM en BSA/PBS al 1 % (los colorantes incluyen Cy5, TAMRA, Rodamina-verde y Cy7) si se cultiva con 3-azido-D-alanina. El colorante no incorporado se elimina como se ha descrito anteriormente, por (1)
5 ultracentrifugación, lavado y resuspensión; o (2) intercambio de tampón por diálisis o filtración.

Las VE marcadas también pueden generarse a partir de bacterias *Prevotella* que expresan proteína verde fluorescente (GFP) o cualquier otra proteína fluorescente.

10 Se pueden usar puntos cuánticos para marcar las VE para estudios de imagen *in vivo* no invasivos (K. Kikushima, et al., *Scientific Reports*. 3(1913) (2013)). Los puntos cuánticos se conjugan con un anticuerpo que se confirma que está presente en la membrana de las VE. Las VE aislados se
15 incuban con conjugados de puntos cuánticos y los conjugados adicionales se eliminan como se ha descrito anteriormente, por (1) ultracentrifugación, lavado y resuspensión; o (2) intercambio de tampón por diálisis o filtración.

Las VE marcadas fluorescentemente se detectan en
20 muestras *in vitro* y *ex vivo* mediante microscopia confocal, análisis de seguimiento de nanopartículas y/o citometría de flujo. Adicionalmente, las VE marcadas fluorescentemente se detectan en animales completos y/u órganos y tejidos disecados usando un instrumento tal como el espectro IVIS
25 CT (Perkin Elmer), como en H-I. Choi, et al. *Experimental & Molecular Medicine*. 49: e330 (2017).

Adicionalmente, las VE pueden estar radiomarcadas como se ha descrito previamente (Z. Varga et al., *Cancer Biother Radiopharm*. 2016 Jun;31(5):168-73).

30 Por ejemplo, las VE purificadas se radiomarkan con el complejo ^{99m}Tc -tricarbonilo [$^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3$]⁺ utilizando un kit comercial (Isolink®; Mallinckrodt Medical B.V.), de

acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Ejemplo 3: Microscopia electrónica de transmisión para visualizar la producción bacteriana de VE y VE bacterianas purificadas

5 La microscopia electrónica de transmisión (TEM) se usa para visualizar bacterias a medida que producen VE o VE bacterianas purificadas (S. Bin Park, et al. PLoS ONE. 6(3):e17629 (2011). Las VE se preparan a partir de un cultivo discontinuo de bacterias como se describe en el

10 Ejemplo 1. Las VE se montan en rejillas de cobre con recubrimiento de carbono de 300 o 400 mallas (Electron Microscopy Sciences, EE.UU.) durante 2 minutos y se lavan con agua desionizada. Las VE se tiñen negativamente usando acetato de uranilo al 2 % (p/v) durante 20 segundos - 1

15 minuto. Las rejillas de cobre se lavan con agua estéril y se secan. Las imágenes se adquieren utilizando un microscopio electrónico de transmisión con una tensión de aceleración de 100-120 kV. Las VE teñidas aparecen entre 20-250 nm de diámetro y son electrodensas. Se realiza

20 detección selectiva 10-50 campos en cada rejilla.

Ejemplo 4: Perfilado de composición y contenido de VE

 Las VE se pueden caracterizar mediante cualquiera de varios métodos, incluyendo, pero sin limitación, caracterización NanoSight, electroforesis en gel SDS-PAGE,

25 transferencia de tipo Western, ELISA, cromatografía líquida-espectrometría de masas y espectrometría de masas, Dispersión de luz dinámica, niveles de lípidos, proteína total, relación entre lípidos y proteínas, análisis de ácidos nucleicos y potencial zeta.

30 *Caracterización NanoSight de VE*

 El análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) se usa para caracterizar la distribución del tamaño de las VE

bacterianas purificadas. Las preparaciones de VE purificadas se pasan por una máquina NanoSight (Malvern Instruments) para evaluar el tamaño y la concentración de las VE.

5 *Electroforesis en gel SDS-PAGE*

Para identificar los componentes proteicos de las VE purificadas (Ejemplo 1), las muestras se procesan en un gel Bolt Bis-Tris Plus al 4-12 % (Thermo-Fisher Scientific) usando técnicas estándar. Las muestras se llevan a
10 ebullición en 1x tampón para muestras de SDS durante 10 minutos, se enfrían a 4 °C y luego se centrifugan 16.000 x g durante 1 min. A continuación, las muestras se procesan en un gel de SDS-PAGE y se tiñen usando una de varias técnicas estándar (por ejemplo, tinción de plata, azul de
15 Coomassie, Gel Code Blue) para visualización de bandas.

Análisis de transferencia de tipo Western

Para identificar y cuantificar los componentes proteicos específicos de VE purificadas, las proteínas de las VE se separan mediante SDS-PAGE como se ha descrito
20 anteriormente y se someten a análisis de transferencia de tipo Western (Cvijetkovic et al., *Sci. Rep.* **6**, 36338 (2016) y se cuantifican mediante ELISA.

Cromatografía líquida-Espectrometría de Masas (LC-MS/MS) y espectrometría de Masas (MS)

25 Las fracciones digeridas de los geles SDS-PAGE se analizan para técnicas de espectrometría de masas. Adicionalmente, el contenido metabólico se determina usando técnicas de cromatografía líquida combinadas con espectrometría de masas. Existe diversas técnicas para
30 determinar el contenido metabólico de diversas muestras y son conocidas por un experto en la técnica que implica la extracción con disolventes, separación cromatográfica y

diversas técnicas de ionización acopladas a la determinación de masas (Roberts et al 2012 Targeted Metabolomics. Curr Protoc Mol Biol. 30: 1-24; Dettmer et al 2007, Mass spectrometry-based metabolomics. Mass Spectrom Rev. 26(1):51-78). Como ejemplo no limitante, un sistema de LC-MS incluye un espectrómetro de masas cuadrupolo triplee 4000 QTRAP (AB SCIEX) combinado con una bomba de la serie 1100 (Agilent) y un automuestreador HTS PAL (Leap Technologies)). Se extraen muestras de medios u otras mezclas metabólicas complejas (~ 10 µl) usando nueve volúmenes de 74.9: 24.9:0.2 (v/v/v) acetonitrilo/metanol/ácido fórmico que contienen patrones internos marcados con isótopos estables (valina-d8, Isotec; y fenilalanina-d8, Cambridge Isotope Laboratories). Los patrones pueden ajustarse o modificarse según los metabolitos de interés. Las muestras se centrifugan (10 min, 9.000 g, 4 °C) y los sobrenadantes (10 µl) se pasan a LCMS inyectando la solución en la columna HILIC (150 × 2.1 mm, tamaño de partícula de 3 µm). La columna se eluye haciendo fluir una fase móvil al 5 % [formiato de amonio 10 mM, ácido fórmico al 0.1 % en agua] durante 1 minuto a una velocidad de 250 µl/min, seguido de un gradiente lineal durante 10 minutos a una solución de fase móvil al 40 % [acetonitrilo con 0.1 % de ácido fórmico]. El voltaje de pulverización de iones se establece en 4.5 kV y la temperatura de la fuente es de 450 °C.

Los datos se analizan utilizando software disponible en el mercado como Multiquant 1.2 de AB SCIEX para la integración máxima del espectro de masas. Los picos de interés deben ser curados manualmente y comparados con los patrones para confirmar la identidad del pico. La cuantificación con patrones apropiados se realiza para

determinar la cantidad de metabolitos presentes en los medios iniciales, después del acondicionamiento bacteriano y después del crecimiento de células tumorales.

Dispersión de luz dinámica (DLS)

5 Mediciones de DLS, incluyendo la distribución de partículas de diferentes tamaños en diferentes preparaciones de VE se toman usando instrumentos, tales como el DynaPro NanoStar (Wyatt Technology) y el Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments).

10 *Niveles de lípidos*

Los niveles de lípidos se cuantifican utilizando FM4-64 (Life Technologies), por métodos similares a los descritos por A.J. McBroom *et al.* *J Bacteriol* 188:5385-5392. y A. Frias, *et al.* *Microb Ecol.* 59:476-486 (2010).
15 Las muestras se incuban con FM4-64 (3.3 µg/ml en PBS durante 10 minutos a 37 °C en la oscuridad). Después de la excitación a 515 nm, la emisión a 635 nm se mide usando un lector de placas Spectramax M5 (Molecular Devices). Las concentraciones absolutas se determinan mediante la
20 comparación de muestras desconocidas con patrones (tales como las vesículas de palmitoiloleoilfosfatidilglicerol (POPG)) de concentración conocida.

Proteína total

Los niveles de proteína se cuantifican mediante
25 ensayos estándar, tales como los ensayos de Bradford y BCA. Los ensayos de Bradford se realizan con Quick Start Bradford 1x reactivo colorante (Bio-Rad), de acuerdo con los protocolos del fabricante. Los ensayos de BCA se realizan utilizando el kit de ensayo de proteínas Pierce
30 BCA (Thermo-Fisher Scientific). Las concentraciones absolutas se determinan por comparación con una curva estándar generada a partir de BSA de concentraciones

conocidas.

Proporciones lípidos:proteínas

Las proporciones de lípidos:proteínas se generan dividiendo las concentraciones de lípidos por las concentraciones de proteína. Estas proporcionan una medida de la pureza de las vesículas en comparación con la proteína libre en cada preparación.

Análisis de ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos se extraen de las VE y se cuantifican usando un fluorómetro Qubit. La distribución del tamaño se evalúa con un BioAnalyzer y el material se secuencía.

Potencial zeta

El potencial zeta de diferentes preparaciones se mide usando instrumentos tales como Zetasizer ZS (Malvern Instruments).

Ejemplo 5: Manipulación de las bacterias a través del estrés para producir diversas cantidades de VE y/o variar el contenido de las VE

El estrés y, en particular, el estrés de la cubierta, se ha demostrado que aumenta la producción de VE por algunas cepas bacterianas (I. MacDonald, M. Kuehn. *J Bacteriol* 195(13): doi: 10/1128/JB.02267-12). Para variar la producción de VE por bacterias, las bacterias se estresan usando varios métodos.

Las bacterias pueden estar sujetas a factores estresantes únicos o estresantes en combinación. Los efectos de diferentes factores estresantes sobre diferentes bacterias se determinan empíricamente variando la condición de estrés y determinando el valor de la CI₅₀ (las condiciones requeridas para inhibir el crecimiento celular en un 50 %). La purificación, cuantificación y

caracterización de las VE se producen como se detalla en los Ejemplos 1-4. La producción de VE se cuantifica (1) en muestras complejas de bacterias y VE mediante análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) o microscopia electrónica de transmisión (TEM); o (2) después de la purificación de VE mediante NTA, cuantificación de lípidos o cuantificación de proteínas. El contenido de VE se evalúa después de la purificación por los métodos descritos anteriormente.

10 *Estrés por antibióticos*

Las bacterias se cultivan en condiciones de crecimiento estándar con la adición de concentraciones subinhibitorias de antibióticos. Estas pueden incluir 0.1-1 µg/ml de cloranfenicol, o 0.1-0.3 µg/ml de gentamicina o concentraciones similares de otros antibióticos (por ejemplo, ampicilina, polimixina B). Los productos antimicrobianos, tales como lisozima, defensinas y proteínas Reg pueden usarse en lugar de los antibióticos. Los péptidos antimicrobianos producidos por bacterias, incluyendo bacteriocinas y microcinas también pueden usarse.

Estrés de temperatura

Las bacterias se cultivan en condiciones de crecimiento estándar, pero a temperaturas más altas o más bajas que las típicas para su crecimiento. Como alternativa, las bacterias se cultivan en condiciones estándar y luego se someten a choque frío o choque caliente mediante incubación durante un corto período de tiempo a temperaturas bajas o altas, respectivamente. Por ejemplo, las bacterias cultivadas a 37 °C se incuban durante 1 hora a 4 °C-18 °C para un choque frío o 42 °C-50 °C para el choque con calor.

Inanición y limitación de nutrientes

Para inducir estrés nutricional, las bacterias se cultivan en condiciones en las que uno o más nutrientes son limitados. Las bacterias pueden estar sujetas a estrés
5 nutricional durante el crecimiento o desplazarse de un medio rico a un medio pobre. Algunos ejemplos de componentes de medios que son limitados son carbono, nitrógeno, hierro y azufre. Un medio de ejemplo es medio mínimo M9 (Sigma-Aldrich), que contiene bajo contenido en
10 glucosa como única fuente de carbono. Particularmente, para especies de *Prevotella*, la disponibilidad de hierro se varía variando la concentración de hemina en los medios y/o variando el tipo de porfirina u otro portador de hierro presente en los medios, ya que se descubrió que las células
15 cultivadas en condiciones de bajo contenido de hemina baja producen un mayor número de VE (S. Stubbs et al. *Letters in Applied Microbiology*. 29:31-36 (1999)). Los componentes de los medios también se manipulan mediante la adición de quelantes como EDTA y deferoxamina.

20 Saturación

Las bacterias se cultivan hasta la saturación y se incuban más allá del punto de saturación durante varios períodos de tiempo. Como alternativa, los medios acondicionados se usan para imitar los ambientes de
25 saturación durante el crecimiento exponencial. Los medios acondicionados se preparan mediante la eliminación de células intactas de cultivos saturados mediante centrifugación y filtración, como se describe en el Ejemplo 1, y los medios acondicionados se pueden tratar
30 adicionalmente para concentrar o eliminar componentes específicos.

Estrés salino

Las bacterias se cultivan o se exponen durante períodos breves a medios que contienen NaCl, sales biliares u otras sales.

Estrés por UV

5 El estrés por UV se logra al cultivar bacterias bajo una lámpara UV o al exponer las bacterias a la luz ultravioleta con un instrumento como un Stratalinker (Agilent). Se puede administrar UV a lo largo de todo el período de cultivo, en ráfagas cortas, o durante un solo
10 período definido después del crecimiento.

Estrés por oxígeno reactivo

Las bacterias se cultivan en presencia de concentraciones subinhibitorias de peróxido de hidrógeno (250-1.000 μ M) para inducir estrés en forma de especies de
15 oxígeno reactivo. Las bacterias anaerobias se cultivan o se exponen a concentraciones de oxígeno que son tóxicas para ellas.

Estrés por detergente

Las bacterias se cultivan o se exponen al detergente,
20 tal como dodecil sulfato sódico (SDS) o desoxicolato.

Estrés por pH

Las bacterias se cultivan o se exponen durante períodos de tiempo limitados a medios de pH diferentes.

Ejemplo 6: Preparación de bacterias libres de VE

25 Se preparan muestras bacterianas que contienen cantidades mínimas de VE. La producción de VE se cuantifica (1) en muestras complejas de bacterias y componentes extracelulares por NTA o TEM; o (2) después de la purificación de VE a partir de muestras bacterianas, por
30 NTA, cuantificación de lípidos o cuantificación de proteínas.

a. Centrifugación y lavado: Los cultivos bacterianos

se centrifugan a 11.000 x g para separar las células intactas del sobrenadante (incluyendo proteínas y vesículas libres). El sedimento se lava con tampón, tal como PBS, y se almacena de una manera estable (por ejemplo, mezclado con glicerol, se somete a congelación ultrarrápida y se almacena a -80 °C).

b. ATF: Las bacterias y las VE se separan mediante la conexión de un biorreactor a un sistema ATF. Las bacterias libres de VE se retienen dentro del biorreactor y se pueden separar aún más de las VE residuales mediante centrifugación y lavado, como se ha descrito anteriormente.

c. Las bacterias se cultivan en condiciones que limitan la producción de VE. Las condiciones que pueden variar incluyen las enumeradas para el Ejemplo 5.

Ejemplo 7: Cribado *in vitro* de VE para una activación potenciada de las células dendríticas

La capacidad de las VE de *Vibrio cholerae* para activar las células dendríticas indirectamente a través de células epiteliales es un mecanismo no limitante por el cual estimulan una respuesta inmunitaria en huéspedes mamíferos (D. Chatterjee, K. Chadhuri. *J Biol Chem.* 288(6):4299-309. (2013)). Como es probable que esta actividad de VE se comparta con otras bacterias que estimulan las cascadas proinflamatorias *in vivo*, en el presente documento se desvelan métodos *in vitro* para analizar la activación de las CD mediante VE bacterianas. En resumen, las PBMC se aíslan de la sangre venosa heparinizada de las CM por centrifugación en gradiente usando Lymphoprep (Nycomed, Oslo, Noruega) o de bazo o médula ósea de ratón utilizando el kit de aislamiento de células dendríticas de sangre humana con perlas magnéticas (Miltenyi Biotech, Cambridge, MA). Usando mAb anti-CD14 humano, los monocitos se

purifican mediante Moflo y se cultivan en cRPMI a una densidad celular de 5×10^5 células/ml en una placa de 96 pocillos (Costar Corp) durante 7 días a 37 °C. Para la maduración de células dendríticas, el cultivo se estimula con 0.2 ng/ml de IL-4 y 1.000 U/ml de GM-CSF a 37 °C durante una semana. Como alternativa, la maduración se logra mediante la incubación con GM-CSF recombinante solo durante una semana. Las CD de ratón se pueden cosechar directamente del bazo usando enriquecimiento de perlas o diferenciadas de células madre hematopoyéticas. En resumen, la médula ósea se obtiene de los fémures de ratones. Las células se recuperan y los glóbulos rojos se lisan. Las células madre se cultivan en medio de cultivo celular junto con 20 ng/ml de GMCSF de ratón durante 4 días. Se añade medio adicional que contiene 20 ng/ml de GM-CSF de ratón. El día 6, se retiran el medio y las células no adherentes y se reemplazan por medio de cultivo celular nuevo que contiene 20 ng/ml de GMCSF. Se añade una adición final de medio de cultivo celular con 20 ng/ml de GM-CSF el día 7. El día 10, las células no adherentes se cosechan y se siembran en placas de cultivo celular durante la noche y se estimulan según se requiera. A continuación, las células dendríticas se tratan con 25-75 ug/ml de VE durante 24 horas con antibióticos. Las composiciones de VE analizadas pueden incluir una VE de una sola especie o cepa bacteriana. Las composiciones de VE analizadas también pueden incluir una mezcla de VE de géneros bacterianos, especies dentro de un género o cepas dentro de una especie. El PBS y las VE de *Lactobacillus* se incluyen como controles negativos, y el LPS, los anticuerpos anti-CD40 y las VE de *Prevotella* spp. se usan como controles positivos. Después de la incubación, las CD se tiñen con anti CD11b, CD11c,

CD103, CD8a, CD40, CD80, CD83, CD86, MHCI y MHCII, y se analizan por citometría de flujo. Las CD que se incrementan significativamente en CD40, CD80, CD83 y CD86 en comparación con los controles negativos se consideran
5 activadas por la composición de VE bacteriana asociada. Estos experimentos se repiten tres veces como mínimo.

Para detectar la capacidad de las células epiteliales activadas por VE para estimular las CD, se sigue el protocolo anterior con la adición de un co-cultivo VE de
10 células epiteliales durante 24 horas antes de la incubación con CD. Las células epiteliales se lavan después de la incubación con VE y luego se cocultivan con CD en ausencia de VE durante 24 horas antes de procesarse como anteriormente. Las líneas celulares epiteliales pueden
15 incluir Int407, HEL293, HT29, T84 y CACO2.

Como una medida adicional de la activación de CD, Se retiran 100 µl del sobrenadante del cultivo de los pocillos después de la incubación durante 24 horas de las CD con VE o células epiteliales tratadas con VE y se analizan las
20 citocinas secretadas, quimiocinas y factores de crecimiento con Luminex Magpix multiplexado. Kit (EMD Millipore, Darmstadt, Alemania). En resumen, los pocillos se humedecen previamente con tampón y se añaden 25 µl de perlas magnéticas recubiertas de anticuerpo 1x y se realizan 2x
25 200 µl de tampón de lavado en cada pocillo utilizando el imán. Se añaden 50 µl de tampón de incubación, 50 µl de diluyente y 50 µl de muestras y se mezclan mediante agitación durante 2 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Las perlas se lavan después dos veces con 200 µl
30 de tampón de lavado. Se añaden 100 µl de anticuerpo detector biotinilado 1X y la suspensión se incuba durante 1 hora con agitación en la oscuridad. Luego se realizan dos

lavados de 200 µl con tampón de lavado. Se añaden 100 µl de reactivo SAV-RPE 1x a cada pocillo y se incuban durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Se realizan tres lavados de 200 µl y se añaden 125 µl de tampón de lavado con 2-3 minutos de agitación. A continuación, los pocillos se envían para su análisis en el sistema Luminex xMAP.

Los patrones permiten una cuantificación cuidadosa de las citocinas, incluyendo GM-CSF, IFN-γ, IFN-α, IFN-β, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-12 (p40/p70), IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IP-10, KC, MCP-1, MIG, MIP1α, TNFα y VEGF. Estas citocinas se evalúan en muestras de origen de ratón y humano. Los aumentos en estas citocinas en las muestras tratadas con bacterias indican una producción mejorada de proteínas y citocinas del huésped. Se evalúan otras variaciones de este ensayo que examinan la capacidad del tipo celular específico para liberar citocinas adquiriendo estas células mediante métodos de clasificación y son reconocidas por un experto en la técnica. Asimismo, también se evalúa el ARNm de las citocinas para abordar la liberación de citocinas en respuesta a una composición de VE. Estos cambios en las células del huésped estimulan una respuesta inmunitaria de forma similar a la respuesta *in vivo* en un microambiente de cáncer.

Este protocolo de estimulación de CD puede repetirse usando combinaciones de VE purificadas y cepas bacterianas vivas para maximizar el potencial de estimulación inmunitaria.

Ejemplo 8: Cribado *in vitro* de VE para una activación mejorada de la muerte de células T CD8 + cuando se incuban con células tumorales

Se describen métodos *in vitro* para el cribado de VE que pueden activar la muerte de las células tumorales por las células T CD8+. En resumen, Las CD se aíslan de PBMC humanas o bazos de ratón y se incuban con VE de una sola
5 cepa, mezclas de VE y controles apropiados como se describe en el Ejemplo 12. Además, las células T CD8+ se obtienen de PBMC humanas o bazos de ratón usando el kit de aislamiento de células T CD8a+ basado en perlas magnéticas y el kit de aislamiento de células T CD8+ humanas basado en perlas
10 magnéticas (ambas de Miltenyi Biotec, Cambridge, MA). Después de la incubación de 24 horas de las CD con VE, o CD con células epiteliales estimuladas con VE (detalladas en el Ejemplo 12), las VE se eliminan de las células con lavados de PBS, se añaden a cada pocillo 100 ul de medio
15 nuevo con antibióticos y se añaden 200.000 células T a cada pocillo experimental en la placa de 96 pocillos. Se añaden anticuerpos anti-CD3 a una concentración final de 2ug/ml. Los co-cultivos se dejan incubar a 37 °C durante 96 horas bajo condiciones normales de oxígeno.

20 72 horas en la incubación de cocultivo, 50.000 células tumorales/pocillo se siembran en placas por pocillo en placas nuevas de 96 pocillos. Las líneas de células tumorales de ratón utilizadas incluyen B16.F10, SIY + B16.F10, y otras. Las líneas celulares tumorales humanas
25 son HLA compatibles con el donante, y pueden incluir las líneas celulares PANC-1, UNKPC960/961, UNKC y HELA. Después de completar el co-cultivo de 96 horas, se transfieren 100 µl de células T CD8 + y la mezcla CD a Los pocillos que contienen células tumorales. Las placas se incuban durante
30 24 horas a 37 °C en condiciones normales de oxígeno. Se usa estaurospaurina como control negativo para explicar la muerte celular.

Después de esta incubación, la citometría de flujo se usa para medir la muerte de las células tumorales y caracterizar el fenotipo de las células inmunitarias. En resumen, las células tumorales se tiñen con colorante de viabilidad. El análisis FACS se usa para acotar específicamente las células tumorales y medir el porcentaje de células tumorales muertas (muertas). Los datos también se muestran como el número absoluto de células tumorales muertas por pocillo. El fenotipo de células T CD8+ citotóxicas se puede caracterizar por los siguientes métodos: a) concentración de granzima B en el sobrenadante, IFN γ y TNF α en el sobrenadante del cultivo como se describe a continuación, b) expresión de la superficie de células T CD8+ de marcadores de activación tales como DC69, CD25, CD154, PD-1, gamma/delta TCR, Foxp3, T-bet, granzima B, c) tinción de citocina intracelular de IFN γ , granzima B, TNF α en células T CD8+. El fenotipo de las células T CD4+ también se puede evaluar mediante tinción de citocinas intracelulares además de la concentración de citocinas en el sobrenadantes, incluyendo IFN γ , TNF α , IL-12, IL-4, IL-5, IL-17, IL-10, quimiocinas, etc.

Como una medida adicional de activación de células T CD8+, Se retiran 100 μ l de sobrenadante de cultivo de los pocillos después de la incubación de 96 horas de células T con CD y se analizan las citocinas secretadas, quimiocinas y factores de crecimiento con Luminex Magpix multiplexado. Kit (EMD Millipore, Darmstadt, Alemania). En resumen, los pocillos se humedecen previamente con tampón y se añaden 25 μ l de perlas magnéticas recubiertas de anticuerpo 1x y se realizan 2x 200 μ l de tampón de lavado en cada pocillo utilizando el imán. Se añaden 50 μ l de tampón de incubación, 50 μ l de diluyente y 50 μ l de muestras y se

mezclan mediante agitación durante 2 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Las perlas se lavan después dos veces con 200 µl de tampón de lavado. Se añaden 100 µl de anticuerpo detector biotinilado 1X y la suspensión se
5 incuba durante 1 hora con agitación en la oscuridad. Luego se realizan dos lavados de 200 µl con tampón de lavado. Se añaden 100 µl de reactivo SAV-RPE 1x a cada pocillo y se incuban durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Se realizan tres lavados de 200 µl y se añaden
10 125 µl de tampón de lavado con 2-3 minutos de agitación. A continuación, los pocillos se envían para su análisis en el sistema Luminex xMAP.

Los patrones permiten una cuantificación cuidadosa de las citocinas, incluyendo GM-CSF, IFN-γ, IFN-α, IFN-β IL-
15 1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-12 (p40/p70), IL-17, IL-23, IP-10, KC, MCP-1, MIG, MIP1α, TNFα y VEGF. Estas citocinas se evalúan en muestras de origen de ratón y humano. Los aumentos en estas citocinas en las muestras tratadas con bacterias indican una producción
20 mejorada de proteínas y citocinas del huésped. Se evalúan otras variaciones de este ensayo que examinan la capacidad del tipo celular específico para liberar citocinas adquiriendo estas células mediante métodos de clasificación y son reconocidas por un experto en la técnica. Asimismo,
25 también se evalúa el ARNm de las citocinas para abordar la liberación de citocinas en respuesta a una composición de VE. Estos cambios en las células del huésped estimulan una respuesta inmunitaria de forma similar a la respuesta *in vivo* en un microambiente de cáncer.

30 Este protocolo de estimulación de células T CD8+ puede repetirse usando combinaciones de VE purificadas y cepas bacterianas vivas para maximizar el potencial de

estimulación inmunitaria.

Ejemplo 9: Cribado *in vitro* de VE para una destrucción potenciada de las células tumorales por las PBMC

Métodos para cribar las VE para la capacidad para
5 estimular las PBMC, que a su vez activan las células T CD8+
para matar las células tumorales. Las PBMC se aíslan de la
sangre venosa heparinizada de las CM por centrifugación en
gradiente de Ficoll-paque para sangre de ratón o humana, o
con medio de separación de células de Lympholyte (Cedarlane
10 Labs, Ontario, Canadá) de sangre de ratón. Las PBMC se
incuban con VE de una sola cepa, mezclas de VE y controles
apropiados como se describe en el Ejemplo 12. Además, Las
células T CD8+ se obtienen de PBMC humanas o bazos de ratón
como en el Ejemplo 12. Después de na incubación de 24 horas
15 de PBMC con VE, las VE se eliminan de las células con
lavados de PBS, se añaden a cada pocillo 100 ul de medio
nuevo con antibióticos y se añaden 200.000 células T a cada
pocillo experimental en la placa de 96 pocillos. Se añaden
anticuerpos anti-CD3 a una concentración final de 2ug/ml.
20 Los co-cultivos se dejan incubar a 37 °C durante 96 horas
bajo condiciones normales de oxígeno.

72 horas en la incubación de cocultivo, 50.000 células
tumorales/pocillo se siembran en placas por pocillo en
placas nuevas de 96 pocillos. Las líneas de células
25 tumorales de ratón utilizadas incluyen B16.F10, SIY +
B16.F10, y otras. Las líneas celulares tumorales humanas
son HLA compatibles con el donante, y pueden incluir las
líneas celulares PANC-1, UNKPC960/961, UNKC y HELA. Después
de completar el co-cultivo de 96 horas, se transfieren 100
30 µl de células T CD8+ y la mezcla de PBMC se transfiere a
los pocillos que contienen células tumorales. Las placas se
incuban durante 24 horas a 37 °C en condiciones normales de

oxígeno. Se usa estaurospaurina como control negativo para explicar la muerte celular.

Después de esta incubación, la citometría de flujo se usa para medir la muerte de las células tumorales y caracterizar el fenotipo de las células inmunitarias. En resumen, las células tumorales se tiñen con colorante de viabilidad. El análisis FACS se usa para acotar específicamente las células tumorales y medir el porcentaje de células tumorales muertas (muertas). Los datos también se muestran como el número absoluto de células tumorales muertas por pocillo. El fenotipo de células T CD8+ citotóxicas se puede caracterizar por los siguientes métodos: a) concentración de granzima B en el sobrenadante, IFN γ y TNF α en el sobrenadante del cultivo como se describe a continuación, b) expresión de la superficie de células T CD8+ de marcadores de activación tales como DC69, CD25, CD154, PD-1, gamma/delta TCR, Foxp3, T-bet, granzima B, c) tinción de citocina intracelular de IFN γ , granzima B, TNF α en células T CD8+. El fenotipo de las células T CD4+ también se puede evaluar mediante tinción de citocinas intracelulares además de la concentración de citocinas en el sobrenadantes, incluyendo IFN γ , TNF α , IL-12, IL-4, IL-5, IL-17, IL-10, quimiocinas, etc.

Como una medida adicional de activación de células T CD8+, Se retiran 100 μ l de sobrenadante de cultivo de los pocillos después de la incubación de 96 horas de células T con CD y se analizan las citocinas secretadas, quimiocinas y factores de crecimiento con Luminex Magpix multiplexado. Kit (EMD Millipore, Darmstadt, Alemania). En resumen, los pocillos se humedecen previamente con tampón y se añaden 25 μ l de perlas magnéticas recubiertas de anticuerpo 1x y se realizan 2x 200 μ l de tampón de lavado en cada pocillo

utilizando el imán. Se añaden 50 µl de tampón de incubación, 50 µl de diluyente y 50 µl de muestras y se mezclan mediante agitación durante 2 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Las perlas se lavan después dos
5 veces con 200 µl de tampón de lavado. Se añaden 100 µl de anticuerpo detector biotinilado 1X y la suspensión se incuba durante 1 hora con agitación en la oscuridad. Luego se realizan dos lavados de 200 µl con tampón de lavado. Se añaden 100 µl de reactivo SAV-RPE 1x a cada pocillo y se
10 incuban durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Se realizan tres lavados de 200 µl y se añaden 125 µl de tampón de lavado con 2-3 minutos de agitación. A continuación, los pocillos se envían para su análisis en el sistema Luminex xMAP.

15 Los patrones permiten una cuantificación cuidadosa de las citocinas, incluyendo GM-CSF, IFN-γ, IFN-α, IFN-β IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-12 (p40/p70), IL-17, IL-23, IP-10, KC, MCP-1, MIG, MIP1α, TNFα y VEGF. Estas citocinas se evalúan en muestras de
20 origen de ratón y humano. Los aumentos en estas citocinas en las muestras tratadas con bacterias indican una producción mejorada de proteínas y citocinas del huésped. Se evalúan otras variaciones de este ensayo que examinan la capacidad del tipo celular específico para liberar citocinas
25 adquiriendo estas células mediante métodos de clasificación y son reconocidas por un experto en la técnica. Asimismo, también se evalúa el ARNm de las citocinas para abordar la liberación de citocinas en respuesta a una composición de VE. Estos cambios en las células del huésped estimulan una
30 respuesta inmunitaria de forma similar a la respuesta *in vivo* en un microambiente de cáncer.

Este protocolo de estimulación de PBMC puede repetirse

usando combinaciones de VE purificados y cepas bacterianas vivas para maximizar el potencial de estimulación inmunitaria.

Ejemplo 10. Detección in vitro de VE en células presentadoras de antígenos

Las células dendríticas en la lámina propia constantemente toman muestras de bacterias vivas, bacterias muertas y productos microbianos en la luz intestinal extendiendo sus dendritas a través del epitelio intestinal, que es una forma en que las VE producidas por bacterias en la luz intestinal pueden estimular directamente las células dendríticas. Los siguientes métodos representan una forma de evaluar la absorción diferencial de las VE por las células presentadoras de antígeno. Opcionalmente, estos métodos se pueden aplicar para evaluar el comportamiento inmunomodulador de las VE administradas a un paciente.

Las células dendríticas (CD) se aíslan de la médula ósea, sangre o bazo de ser humano o de ratón según los métodos estándar o protocolos del kit (por ejemplo, Inaba K, Swiggard WJ, Steinman RM, Romani N, Schuler G, 2001. Isolation of dendritic cells. Current Protocols in Immunology. Capítulo 3: Unidad 3.7) y como se ha tratado en el Ejemplo 12.

Para evaluar la entrada de las VE y/o presencia de VE en las CD, se siembran 250.000 CD en un cubreobjetos redondo en medio RPMI-1640 completo y luego se incuban con VE de cepas bacterianas únicas o combinaciones de VE en una multiplicidad de infección (MOI) entre 1:1 y 1:10. Las VE purificadas se han marcado con fluorocromos o proteínas fluorescentes como se describe en el Ejemplo 2. Después de 1 hora de incubación, las células se lavan dos veces con PBS helado, se desprenden de la placa con tripsina. Las

células pueden permanecer intactas o se lisan. A continuación, las muestras se procesan para citometría de flujo. Las VE totales internalizadas se cuantifican a partir de muestras lisadas y el porcentaje de células que captan las VE se mide contando células fluorescentes. Los métodos descritos anteriormente también se pueden realizar sustancialmente de la misma manera usando macrófagos o líneas de células epiteliales (obtenidas de la ATCC) en lugar de CD.

10 **Ejemplo 11: Cribado *in vitro* de VE con una capacidad mejorada para activar la muerte de células NK cuando se incuban con células diana**

Para demostrar la capacidad de las composiciones de VE seleccionadas para provocar una citotoxicidad de células NK potente para las células tumorales cuando se incuban con las células tumorales, se usa el siguiente ensayo *in vitro*. En resumen, las células mononucleares de sangre heparinizada se obtienen de donantes humanos sanos. Opcionalmente, una etapa de expansión para aumentar el número de células NK se realiza tal como se ha descrito previamente (por ejemplo, véase Somanschi et al 2011 J Vis Exp.). Se ajustan a una concentración de 1×10^6 células/ml en medio RPMI-1640 que contiene suero humano al 5 %. A continuación, se marcan las células PMNC se marcan con anticuerpos apropiados y las células NK se aíslan mediante FACS como células CD3-/CD56+ y están listas para el posterior ensayo de citotoxicidad. Como alternativa, Las células NK se aíslan usando el instrumento autoMACs y el kit de aislamiento de células NK siguiendo las instrucciones del fabricante (Miltenyl Biotec).

Se cuentan las células NK, y se siembran en placas en un formato de 96 pocillos con 5.000 células por pocillo y

se incuban con VE de una sola cepa, Las VE de mezclas de cepas bacterianas y controles apropiados como se describe en el Ejemplo 12. Como control negativo adicional, este ensayo se realiza con VE de *Fusobacterium nucleatum*. Se sabe que *F. nucleatum* es inhibidor de la actividad de las células NK (véase, por ejemplo, Gur et al 2005 Immunity 42: 1-12). Después de 5-24 horas de incubación de células NK con VE, las VE se eliminan de las células con lavados de PBS, Las células NK se resuspenden en 10 medios frescos con antibióticos y se añaden a placas de 96 pocillos que contienen 50.000 células tumorales diana/pocillo. Las líneas de células tumorales de ratón utilizadas incluyen B16.F10, SIY + B16.F10, y otras. Las líneas celulares tumorales humanas son HLA compatibles con el donante, y pueden incluir PANC-1, UNKPC960/961, Líneas celulares UNKC y HELA. Las placas se incuban durante 24 horas a 37 °C en condiciones normales de oxígeno. Se usa estaurospaurina como control negativo para explicar la muerte celular.

Después de esta incubación, se usa citometría de flujo para medir la muerte de células tumorales. En resumen, las células tumorales se tiñen con colorante de viabilidad. El análisis FACS se usa para acotar específicamente las células tumorales y medir el porcentaje de células tumorales muertas (muertas). Los datos también se muestran como el número absoluto de células tumorales muertas por pocillo.

Este protocolo de estimulación de células NK puede repetirse usando combinaciones de VE purificadas y cepas bacterianas vivas para maximizar el potencial de estimulación inmunitaria.

Ejemplo 12: Uso de ensayos de activación inmunitaria *in vitro* para predecir la eficacia de la inmunoterapia contra

el cáncer *in vivo* de las composiciones de VE

Los ensayos de activación inmunitaria *in vitro* identifican VE que pueden estimular células dendríticas, que a su vez activan la destrucción de las células T CD8+.

5 Trabajo de A. Sivan, et al, *Science* 350(6264): 1084-1089 (2015) ha sugerido que la destrucción mejorada de las células tumorales por las células T CD8+ en respuesta a la ingestión oral de *Prevotella* spp. es una inmunoterapia eficaz contra el cáncer en ratones. Por lo tanto, los

10 ensayos *in vitro* descritos anteriormente se usan como cribado predictivo rápido de un gran número de candidatos a VE para la posible actividad de inmunoterapia. Las VE que muestran una estimulación mejorada de las células dendríticas, estimulación mejorada de la muerte de células

15 T CD8+, estimulación mejorada de la muerte de PBMC, y/o estimulación potenciada de la muerte de células NK, se eligen, preferentemente, para estudios de eficacia de inmunoterapia contra el cáncer *in vivo*.

Ejemplo 13: Determinación de la biodistribución de VE

20 cuando se administran por vía oral a ratones

A ratones de tipo sillvestre (por ejemplo, C57BL/6 o BALB/c) se inocula por vía oral la composición de VE de interés para determinar el perfil de biodistribución *in vivo* de las VE purificadas (Ejemplo 1). Las VE se marcan

25 como en el Ejemplo 2 para ayudar en los análisis posteriores.

Los ratones pueden recibir una dosis única de VE (25-100 µg) o varias dosis en un curso de tiempo definido (25-100 µg). Todos los ratones son alojados en condiciones

30 libres de patógenos específicos siguiendo los protocolos aprobados. Como alternativa, los ratones pueden criarse y mantenerse en condiciones estériles, libres de gérmenes. Se

pueden tomar muestras de sangre y heces en momentos apropiados.

Se sacrifica humanamente a los ratones en diversos puntos de tiempo (es decir, de horas a días) después de la
5 inoculación con las composiciones de VE y se realiza una necropsia completa en condiciones estériles. Siguiendo los protocolos estándar, los ganglios linfáticos, la glándula suprarrenal, el hígado, el colon, el intestino delgado, el ciego, el estómago, el bazo, los riñones, la vejiga
10 urinaria, el páncreas, el corazón, la piel, los pulmones, el cerebro y otros tejidos de interés se cosechan y se usan directamente o se congelan instantáneamente para realizar más pruebas. Las muestras de tejido se diseccionan y homogeneizan para preparar suspensiones de células
15 individuales siguiendo protocolos estándar conocidos por los expertos en la técnica. A continuación, el número de VE presentes en la muestra se cuantifica mediante citometría de flujo (Ejemplo 17). La cuantificación también puede continuar con el uso de microscopia de fluorescencia
20 después del procesamiento apropiado del tejido completo de ratón Vankelecom H., Fixation and paraffin-embedding of mouse tissues for GFP visualization, *Cold Spring Harb. Protoc.*, 2009). Como alternativa, los animales pueden analizarse utilizando imágenes en vivo de acuerdo con la
25 técnica de marcaje de VE.

Ejemplo 14: Administración de VE con una activación inmunitaria potenciada *in vitro* para el tratamiento de modelos singénicos de tumores de ratón

Se genera un modelo de cáncer de ratón mediante
30 inyección subcutánea de una línea celular tumoral o una muestra tumoral derivada del paciente y que permite su injerto en ratones C57BL/6 hembra de 6-8 semanas de edad.

Los métodos proporcionados en el presente documento se replican utilizando varias líneas de células tumorales, que incluyen: células B16-F10 o B16-F10-SIY como modelo ortotópico de melanoma, células Panc02 como modelo
5 ortotópico de cáncer de páncreas, inyectadas a una concentración de 1×10^6 células en el flanco derecho (Maletzki et al 2008. Gut 57:483-491), células LLC1 como modelo ortotópico de cáncer de pulmón, CT-26 como modelo ortotópico de cáncer colorrectal y RM-1 como modelo
10 ortotópico de cáncer de próstata. Como ejemplo, los métodos para el modelo B16-F10 se proporcionan en profundidad en el presente documento.

Se usa un modelo de ratón singénico de melanoma espontáneo con una frecuencia metastásica muy alta para
15 evaluar la capacidad de las bacterias para reducir el crecimiento tumoral y la diseminación de metástasis. Las VE seleccionadas para este ensayo son composiciones que muestran una activación mejorada de las subpoblaciones de células inmunitarias y estimulan la destrucción mejorada de
20 células tumorales *in vitro* (Ejemplos 12-16). La línea celular de melanoma de ratón B16-F10 se obtiene de la ATCC. Las células se cultivan *in vitro* como una monocapa en medio RPMI, suplementado con 10 % de suero bovino fetal inactivado por calor y 1 % de penicilina/estreptomicina a
25 37 ° C en una atmósfera de CO₂ al 5 % en aire. Las células tumorales que crecen exponencialmente se recogen por tripsinización, se lavan tres veces con 1x PBS frío, y se prepara una suspensión de 5E6 células/ml para la administración. Se usan ratones C57BL/6 hembra para este
30 experimento. Los ratones tienen 6-8 semanas de edad y pesan aproximadamente 16-20 g. Para el desarrollo de tumores, se inyectan a cada ratón s.c. en el flanco 100 µl de la

suspensión celular B16-F10. Los ratones son anestesiados con ketamina y xilazina antes del trasplante celular. Se puede iniciar en los animales utilizados en el experimento un tratamiento con antibióticos mediante la instilación de un cóctel de kanamicina (0.4 mg/ml), gentamicina, (0.035 mg/ml), colistina (850 U/ml), metronidazol (0.215 mg/ml) y vancomicina (0.045 mg/ml) en el agua de bebida del día 2 a 5 y una inyección intraperitoneal de clindamicina (10 mg/kg) el día 7 después de la inyección del tumor.

El tamaño del tumor primario del flanco se mide con un calibrador cada 2-3 días y el volumen del tumor se calcula con la siguiente fórmula: volumen tumoral = anchura del tumor² × longitud del tumor × 0.5. Después de que el tumor primario alcanza aproximadamente 100 mm³, los animales se clasifican en varios grupos en función de su peso corporal. Los ratones se toman aleatoriamente de cada grupo y se asignaron a un grupo de tratamiento. Las composiciones VE se preparan como se describe en el Ejemplo 1. A los ratones se inoculan por vía oral con 25-100 µg de VE para su análisis, 25-100 µg de VE de *Lactobacillus* (control negativo), PBS o 25-100 µg de VE de *Prevotella* spp. (control positivo). Los ratones son tratados por vía oral con la misma cantidad de VE al día, semanalmente, quincenalmente, mensualmente, dos veces al mes o en cualquier otro programa de dosificación durante el período de tratamiento. Se inyecta a los ratones por vía intravenosa en la vena de la cola o se inyecta directamente en el tumor. A los ratones se les puede inyectar 10 ng-1 de VE, bacterias y VE o bacterias inactivadas y VE. A los ratones se les puede inyectar semanalmente o una vez al mes. Los ratones también pueden recibir combinaciones de VE purificadas y bacterias vivas para maximizar el potencial

de matar tumores. Todos los ratones están alojados en condiciones libres de patógenos específicos siguiendo protocolos aprobados. El tamaño del tumor, el peso del ratón y la temperatura corporal se controlan cada 3-4 días y se sacrifica a los ratones humanamente 6 semanas después de la inyección de células de melanoma de ratón B16-F10 o cuando el volumen del tumor primario alcanza los 1.000 mm³. Se extraen muestras de sangre semanalmente y se realiza una necropsia completa en condiciones estériles al finalizar el protocolo.

Las células cancerosas se pueden visualizar fácilmente en el modelo de melanoma B16-F10 de ratón debido a su producción de melanina. Siguiendo los protocolos estándar, se recogen muestras de tejido de los ganglios linfáticos y órganos del cuello y la región del tórax y se analiza la presencia de micrometástasis y macrometástasis usando la siguiente regla de clasificación. Un órgano se clasifica como positivo para metástasis si se encuentran al menos dos lesiones micrometastásicas y una macrometastásica por ganglio linfático u órgano. Las micrometástasis se detectan mediante tinción con hematoxilina-eosina de secciones de tejido linfoide embebidas en parafina siguiendo los protocolos estándar conocidos por los expertos en la técnica. El número total de metástasis se correlaciona con el volumen del tumor primario y se encuentra que el volumen tumoral se correlaciona significativamente con el tiempo de crecimiento tumoral y el número de macro y micrometástasis en los ganglios linfáticos y órganos viscerales, y también con la suma de todas las metástasis observadas. Veinticinco sitios metastásicos diferentes se identifican como se ha descrito previamente (Bobek V., et al., Syngeneic lymph-node-targeting model of green fluorescent protein-

expressing Lewis lung carcinoma, Clin. Exp. Metastasis, 2004;21(8):705-8).

Las muestras de tejido tumoral se analizan adicionalmente para detectar linfocitos infiltrantes de tumor. Las células T CD8+ citotóxicas se pueden aislar mediante FACS (véase el Ejemplo 17) y, a continuación, se pueden analizar adicionalmente usando micromatrices de clase I p/MHC adaptadas para revelar su especificidad de antígeno (véase, por ejemplo, Deviren G., et al., Detection of antigen-specific T cells on p/MHC microarrays, J. Mol. Recognit., 2007 Jan-Feb;20(1):32-8). Las células T CD4+ pueden analizarse utilizando micromatrices adaptadas de p/MHC de clase II.

El mismo experimento también se realiza con un modelo de ratón de metástasis de melanoma pulmonar múltiple. La línea celular de melanoma de ratón B16-BL6 se obtiene de la ATCC y las células se cultivan I como se ha descrito anteriormente. Se usan ratones C57BL/6 hembra para este experimento. Los ratones tienen 6-8 semanas de edad y pesan aproximadamente 16-20 g. Para el desarrollo de tumores, a cada ratón se inyectan en la vena de la cola 100 µl de una suspensión de células 2E6/ml de células B16-BL6. Las células tumorales que se injertan en la inyección i.v. terminan en los pulmones.

Se sacrifica los ratones humanamente asesinados después de 9 días. Los pulmones se pesan y analizan para detectar la presencia de nódulos pulmonares en la superficie del pulmón. Los pulmones extraídos se blanquean con solución de Fekete, que no blanquea los nódulos tumorales debido a la melanina en las células B16, aunque una pequeña fracción de los nódulos es amelanótica (es decir, blanca). El número de nódulos tumorales se cuenta

cuidadosamente para determinar la carga tumoral en los ratones. Típicamente, se encuentran 200-250 nódulos pulmonares en los pulmones de los ratones del grupo de control (es decir, sonda nasogástrica de PBS).

5 El porcentaje de carga tumoral se calcula para los tres grupos de tratamiento. Esta medida se define como el número medio de nódulos pulmonares en las superficies pulmonares de ratones que pertenecen a un grupo de tratamiento dividido por el número medio de nódulos
10 pulmonares en las superficies pulmonares de los ratones del grupo control.

Determinación del contenido metabólico con RMN de ^1H

Los triplicados biológicos de los medios y las muestras de medios gastados después del acondicionamiento
15 bacteriano y después del crecimiento del tumor se desproteinan usando filtros Sartorius Centriscart I (límite de 10 kDa). Antes de usar, el filtro se lava dos veces mediante centrifugación de agua para eliminar el glicerol y se añade un pequeño volumen (20 μl) de ácido trimetilsilil-
20 2.2.3.3-tetradeuteropropiónico (TSP, sal de sodio) 20.2 mM en D_2O a 700 μl del ultrafiltrado, proporcionando una referencia de desplazamiento químico (0.00 ppm) y una señal de bloqueo de deuterio. En un tubo de RMN de 5 mm se introducen 650 μl de la muestra. Los espectros de RMN de ^1H
25 de pulso único (500 MHz) se obtienen en un espectrómetro Bruker DMX-500 o instrumento comparable como se ha descrito previamente (de Engelke et al. 2006 NMR spectroscopic studies on the late onset form of 3-methylglutaconic aciduria type I and other defects in leucine metabolism. NMR Biomed.
30 19: 271-278). La fase y la línea de base se corrigen manualmente. Todos los espectros se escalan a TSP y las señales de metabolito se ajustan de forma semiautomática

con una forma de línea de Lorentz. Las concentraciones de metabolitos en los medios gastados se calculan con relación a la concentración conocida en el medio estándar y se expresan correspondientemente en unidades de mM. La
5 concentración de un metabolito en particular se calculó por el área del pico correspondiente en el área del doblete de valina a 1.04 ppm o un patrón apropiado.

Determinación del contenido metabólico con LCMS

El contenido metabólico de una muestra se determina
10 usando técnicas de cromatografía líquida combinadas con espectrometría de masas. Existe diversas técnicas para determinar el contenido metabolómico de diversas muestras y son conocidas por un experto en la técnica que implica la extracción con disolventes, separación cromatográfica y
15 diversas técnicas de ionización acopladas a la determinación de masas (Roberts et al 2012 Targeted Metabolomics. Curr Protoc Mol Biol. 30: 1-24; Dettmer et al 2007, Mass spectrometry-based metabolomics. Mass Spectrom Rev. 26(1):51-78). Como ejemplo no limitante, un sistema de
20 LC-MS incluye un espectrómetro de masas cuadrupolo triplee 4000 QTRAP (AB SCIEX) combinado con una bomba de la serie 1100 (Agilent) y un automuestreador HTS PAL (Leap Technologies)). Se extraen muestras de medios u otras mezclas metabólicas complejas (~ 10 µl) usando nueve
25 volúmenes de 74.9: 24.9:0.2 (v/v/v) acetonitrilo/metanol/ácido fórmico que contienen patrones internos marcados con isótopos estables (valina-d8, Isotec; y fenilalanina-d8, Cambridge Isotope Laboratories). Los patrones pueden ajustarse o modificarse según los
30 metabolitos de interés. Las muestras se centrifugan (10 min, 9.000 g, 4 °C) y los sobrenadantes (10 µl) se pasan a LCMS inyectando la solución en la columna HILIC (150 × 2.1

mm, tamaño de partícula de 3 μ m). La columna se eluye haciendo fluir una fase móvil al 5 % [formiato de amonio 10 mM, ácido fórmico al 0.1 % en agua] durante 1 minuto a una velocidad de 250 μ l/min, seguido de un gradiente lineal
5 durante 10 minutos a una solución de fase móvil al 40 % [acetonitrilo con 0.1 % de ácido fórmico]. El voltaje de pulverización de iones se establece en 4.5 kV y la temperatura de la fuente es de 450 °C.

Los datos se analizan utilizando un software
10 disponible en el mercado, tal como Multiquant 1.2 de AB SCIEX para la integración del pico del espectro de masas. Los picos de interés se seleccionan manualmente y se comparan con los patrones para confirmar la identidad del pico. La cuantificación con patrones apropiados se realiza
15 para determinar la cantidad de metabolitos presentes en los medios iniciales, después del acondicionamiento bacteriano y después del crecimiento de células tumorales.

Las biopsias de tumores y las muestras de sangre se envían para su análisis metabólico mediante las técnicas
20 LCMS descritas en el presente documento. Los niveles diferenciales de aminoácidos, azúcares, lactato, entre otros metabolitos, entre los grupos de prueba demuestran la capacidad de la composición microbiana para alterar el estado metabólico del tumor.

25 *RNA Seq para determinar el mecanismo de acción*

Las células dendríticas se purifican de tumores, placas de Peyers y ganglios linfáticos mesentéricos como se describe en el Ejemplo 12. El análisis de RNAseq se lleva a cabo y se analiza de acuerdo con técnicas estándar
30 conocidas por un experto en la técnica (Z. Hou. *Scientific Reports*. 5(9570):doi:10.1038/srep09570 (2015)). En el análisis, se presta atención específica a los genes de la

vía inflamatoria innata, incluidos los TLR, CLR, NLR y STING, citocinas, quimiocinas, vías de procesamiento y presentación de antígenos, presentación cruzada y coestimulación de células T.

5 **Ejemplo 15:** Administración de VE con una activación inmunitaria potenciada *in vitro* para el tratamiento de modelos singénicos de tumores de ratón en combinación con la inhibición de PD-1 o PD-L1

Para determinar la eficacia de las VE en modelos de
10 ratón de tumores singénicos, se usa el modelo de cáncer colorrectal (CT-26) u otro modelo de cáncer. En resumen, las células tumorales CT-26 (CAT # CRL-2638) se cultivan *in vitro* como una monocapa en medio RPMI-1640 o DMEM complementado con 10 % de suero fetal bovino inactivado por
15 calor a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 % en aire. Se cosechan las células en crecimiento exponencial y se cuentan antes de la inoculación del tumor. Se usaron ratones BALB/c hembra de 6-8 semanas de edad para este experimento. Para el desarrollo de tumores, a cada ratón se
20 inyecta por vía subcutánea en uno o ambos flancos traseros con 5x10⁵ células tumorales CT-26 en 0.1 ml de 1x PBS. Algunos ratones pueden recibir pretratamiento con antibióticos. El tamaño del tumor y el peso del ratón se controlan al menos tres veces a la semana en días no
25 consecutivos.

Las VE se analizan para determinar su eficacia en el modelo de tumor de ratón, solas o en combinación con células bacterianas enteras y con o sin anti-PD-1 o anti-PD-L1. Las VE, las células bacterianas, y/o anti-PD-1 o
30 anti-PD-L1 se administran en puntos de tiempo variados y a dosis variadas. Por ejemplo, el día 10 después de la inyección del tumor o después de que el volumen del tumor

alcanza los 100 mm³, se trata a los ratones on VE solas o en combinación con anti-PD-1 o anti-PD-L1.

Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones
5 pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u
10 otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir
15 alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o eliminarse por calor antes de la administración. Por
20 ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como ocurre con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el
25 régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección subcutánea (s.c.), inyección i.p. o inyección por vía nasal. A algunos grupos de ratones también se inyectan dosis eficaces del inhibidor del punto de control. Por ejemplo, los ratones reciben 100 µg de mAB anti-PD-L1 (clon
30 10f.9g2, BioXCell) u otro mAB anti-PD-1 o anti-PD-L1 en 100 µl de PBS, y algunos ratones reciben vehículo y/u otro control apropiado (por ejemplo, anticuerpo de control). Se

inyecta a los ratones mABs 3, 6 y 9 días después de la inyección inicial. Para evaluar si la inhibición del punto de control y la inmunoterapia con VE tienen efecto antitumoral aditivo, los ratones de control que reciben mAB anti-PD-1 o anti-PD-L1 se incluyen en el panel de control estándar. Se evalúan los criterios de valoración primarios (tamaño tumoral) y secundarios (linfocitos infiltrantes tumorales y análisis de citocinas) y algunos grupos de ratones se vuelven a exponer a una posterior inoculación de células tumorales para evaluar el efecto del tratamiento sobre la respuesta de memoria.

Ejemplo 16: VE en un modelo de ratón de encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE)

La EAE es un modelo animal bien estudiado de esclerosis múltiple, como revisan Constantinescu et al. (Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). Br J Pharmacol. 2011 Oct; 164 (4): 1079-1106). Se puede inducir en diversas cepas de ratón y rata usando diferentes péptidos asociados a la mielina, mediante la transferencia adoptiva de células T encefalitogénicas activadas, o el uso de ratones transgénicos TCR susceptibles a EAE, como se trata en Mangalam et al. (Two discreet subsets of CD8+ T cells modulate PLP₉₁₋₁₁₀ induced experimental autoimmune encephalomyelitis in HLA-DR3 transgenic mice. J Autoimmun. 2012 Jun; 38 (4): 344-353).

Las VE se prueban para determinar su eficacia en el modelo de roedores de EAE, ya sea solas o en combinación con células bacterianas enteras, con o sin la adición de otros tratamientos antiinflamatorios. Por ejemplo, los ratones hembra C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad se obtienen de Taconic (Germantown, NY). A los grupos de ratones se les

administran dos inyecciones subcutáneas (s.c.) en dos sitios en la parte posterior (superior e inferior) de 0.1 ml de glicoproteína oligodendrocítica de mielina 35-55 (MOG35-55; 100 µg por inyección; 200 µg por ratón (total de 5 0.2 ml por ratón)), emulsionado en adyuvante completo de Freund (CFA; 2-5 mg mató *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra/ml de emulsión). Aproximadamente 1-2 horas después de lo anterior, a los ratones se les inyecta intraperitonealmente (i.p.) 200 ng de toxina pertussis 10 (PTx) en 0.1 ml de PBS (2 ug/ml). Se administra una inyección i.p. adicional de PTx el día 2. Como alternativa, una cantidad apropiada de un péptido de mielina alternativo (por ejemplo, proteína de proteolípido (PLP)) se usa para inducir EAE. Algunos animales sirven como controles no 15 expuestos previamente. La gravedad de la EAE se evalúa y se asigna una puntuación de discapacidad al día, comenzando el día 4 de acuerdo con métodos conocidos en la técnica (Mangalam et al. 2012).

El tratamiento con VE se inicia en algún momento, ya 20 sea alrededor del momento de la inmunización o después de la inmunización contra la EAE. Por ejemplo, Las VE se pueden administrar al mismo tiempo que la inmunización (día 1), o se pueden administrar después de los primeros signos de discapacidad (por ejemplo, cola inerte) o durante la EAE 25 grave. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante 30 inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda

nasogástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o
5 una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse
10 o eliminarse por calor antes de la administración.

Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como ocurre con las VE, la
15 administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.) o administración por vía nasal.

Algunos grupos de ratones pueden tratarse con
20 agente(s) antiinflamatorio(s) adicional(es) o terapia(s) para la EAE (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia del TNF, vitamina D, u otro tratamiento), y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en varios momentos y en dosis eficaces.

Además, algunos ratones son tratados con antibióticos
25 antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o
30 unos días antes del tratamiento. Algunos ratones inmunizados son tratados sin recibir antibióticos.

En varios puntos de tiempo, se sacrifica a los ratones

y los sitios de inflamación (por ejemplo, cerebro y médula espinal), los ganglios linfáticos u otros tejidos se pueden extirpar para su análisis histológico ex vivo y mediante citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica.

5 Por ejemplo, los tejidos se disocian usando enzimas de disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-

10 CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B,

15 CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNF α , IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-

20 1b, IFN γ , GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas se puede llevar a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias infiltradas en el sistema nervioso central (SNC) CD45+ purificadas

25 obtenidas ex vivo. Finalmente, se llevan a cabo análisis inmunohistoquímicos en diversas secciones de tejido para medir los niveles de células T, macrófagos, células dendríticas y expresión de la proteína de la molécula del punto de control.

30 Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos, se puede volver a exponer a algunos ratones a un

desencadenante de la enfermedad (por ejemplo, células T encefalitogénicas activadas o reinyección de péptidos inductores de EAE). Los ratones se analizan para determinar la susceptibilidad a la enfermedad y la gravedad de la EAE después de la reexposición.

Ejemplo 17: VE en un modelo de ratón de artritis inducida por colágeno (AIC)

La artritis inducida por colágeno (AIC) es un modelo animal de uso habitual paraa estudiar la artritis reumatoide (AR), como describen Caplazi et al. (Mouse models of rheumatoid arthritis. Veterinary Pathology. Sept. 1, 2015. 52 (5): 819-826) (véase también Brand et al. Collagen-induced arthritis. Nature Protocols. 2007. 2: 1269-1275; Pietrosimone et al. Collagen-induced arthritis: a model for murine autoimmune arthritis. Bio Protoc. 2015 Oct. 20; 5 (20): e1626).

Entre otras versiones del modelo de roedores de AIC, un modelo implica la inmunización de ratones Tg HLA-DQ8 con colágeno de tipo II de pollo según lo descrito por Taneja et al. (J. Immunology. 2007. 56: 69-78; véase también Taneja et al. J. Immunology 2008. 181: 2869-2877; y Taneja et al. Arthritis Rheum., 2007. 56: 69-78). La purificación de CII de pollo ha sido descrita por Taneja et al. (Arthritis Rheum., 2007. 56: 69-78). Se monitoriza a los ratones para detectar el inicio y la progresión de la enfermedad de ACI después de la inmunización y la gravedad de la enfermedad se evalúa y "califica" según lo descrito por Wooley, J. Exp. Med. 1981. 154: 688-700.

Los ratones se inmunizan para la inducción de AIC y se separan en varios grupos de tratamiento. Las VE se analizan para determinar la eficacia en la AIC, ya sea solas o en combinación con células bacterianas enteras, con o sin la

adición de otros tratamientos antiinflamatorios.

El tratamiento con VE se inicia alrededor del momento de la inmunización con colágeno o después de la inmunización. Por ejemplo, en algunos grupos, Las VE pueden
5 administrarse al mismo tiempo que la inmunización (día 1), o las VE pueden administrarse ante los primeros signos de enfermedad o al inicio de los síntomas graves. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos.

Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía
10 intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros grupos de ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.),
15 administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada
20 tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o
25 eliminarse por calor antes de la administración.

Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como ocurre con las VE, la
30 administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p.,

inyección subcutánea (s.c.), inyección intradérmica (i.d.) o administración por vía nasal.

Algunos grupos de ratones pueden tratarse con agente(s) antiinflamatorio(s) adicional(es) o terapia(s) para la AIC (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia del TNF, vitamina D, u otro tratamiento), y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en varios momentos y en dosis eficaces.

Además, algunos ratones son tratados con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o unos días antes del tratamiento. Algunos ratones inmunizados son tratados sin recibir antibióticos.

En varios puntos de tiempo, se obtienen muestras de suero para evaluar los niveles de anticuerpos IgG CII anti-pollo y anti-ratón usando un ELISA estándar (Batsalova et al. Comparative analysis of collagen type II-specific immune responses during development of collagen-induced arthritis in two B10 mouse strains. Arthritis Res Ther. 2012. 14 (6): R237). Asimismo, se sacrifican algunos ratones y los sitios de inflamación (por ejemplo, sinovio), los ganglios linfáticos u otros tejidos se pueden extirpar para su análisis histológico ex vivo y mediante citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. El sinovio y el líquido sinovial se analizan para determinar la infiltración de células plasmáticas y la presencia de anticuerpos usando técnicas conocidas en la técnica. Además, los tejidos se disocian usando enzimas de disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante para examinar los perfiles de los infiltrados celulares.

Las células se tiñen para el análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFNy, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas se puede llevar a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias infiltradas en el sinovio CD45+ purificadas obtenidas ex vivo. Finalmente, se llevan a cabo análisis inmunohistoquímicos en diversas secciones de tejido para medir los niveles de células T, macrófagos, células dendríticas y expresión de la proteína de la molécula del punto de control.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos, se puede volver a exponer a algunos ratones a un desencadenante de la enfermedad (por ejemplo, reinyección activada con péptidos inductores de AIC). Los ratones se analizan para determinar la susceptibilidad a la enfermedad y la gravedad de la AIC después de la reexposición.

Ejemplo 18: VE en un modelo de ratón de colitis

La colitis inducida por dextrao sulfato sódico (DSS) es un modelo animal de colitis bien estudiado, como

revisanRandhawa et al. (A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. Korean J Physiol Pharmacol. 2014. 18 (4): 279-288; véase también Chassaing et al. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. Curr Protoc Immunol. 2014 Feb 4; 104: Unit 15.25).

Las VE se analizan para determinar su eficacia en el modelo de ratón de colitis inducida por DSS, ya sea solas o en combinación con células bacterianas enteras, con o sin la adición de otros agentes antiinflamatorios.

Se trata a los grupos de ratones con DSS para inducir colitis como se conoce en la técnica (Randhawa et al., 2014; Chassaing et al. 2014; véase también Kim et al. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. J Vis Exp. 2012. 60: 3678). Por ejemplo, los ratones macho C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad se obtienen de Charles River Labs, Taconic u otro vendedor. La colitis se induce mediante la adición de 3 % de DSS (MP Biomedicals, Cat. # 0260110) al agua de bebida. Algunos ratones no reciben DSS en el agua de bebida y sirven como controles intactos. Algunos ratones reciben agua durante cinco (5) días. Algunos ratones pueden recibir DSS durante una duración más corta o durante más de cinco (5) días. Los ratones se monitorizan y puntúan usando un índice de actividad de discapacidad conocido en la técnica basado en la pérdida de peso (por ejemplo, sin pérdida de peso (puntuación 0); 1-5 % de pérdida de peso (puntuación 1); 5-10 % de pérdida de peso (puntuación 2)); consistencia de las deposiciones (por ejemplo, normal (puntuación 0); deposiciones sueltas (puntuación 2); diarrea (puntuación 4)); y sangrado (por ejemplo, sin sangre (puntuación 0), hemocultivo positivo (puntuación 1); hemocultivo positivo y

hemorragia visible en el sedimento (puntuación 2); sangre alrededor del ano, sangrado general (puntuación 4).

El tratamiento con VE se inicia en algún momento, ya sea el día 1 de la administración de DSS o en algún momento posterior. Por ejemplo, las VE se pueden administrar al mismo tiempo que DSS (día 1), o se pueden administrar después de los primeros signos de enfermedad (por ejemplo, pérdida de peso, diarrea) o durante los estadios de colitis grave. Se observa diariamente a los ratones para medir el peso, la morbilidad, la supervivencia, la presencia of diarrhea y/o sangre en heces.

Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o eliminarse por calor antes de la administración.

Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la

administración de VE. Como ocurre con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p. o
5 administración por vía nasal.

Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorios(s) adicionales (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia de TNF, u otro tratamiento), y/o un control apropiado (por ejemplo,
10 vehículo o anticuerpo de control) en diversos momentos y en dosis eficaces.

Además, algunos ratones son tratados con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina
15 B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o unos días antes del tratamiento. Algunos ratones reciben DSS sin recibir antibióticos previamente.

En varios puntos de tiempo, se somete a los ratones a una videoendoscopia con un endoscopio para animales pequeños (Karl Storz Endoskope, Alemania) con anestesia con isoflurano. Se registran las imágenes fijas y el video para evaluar el alcance de la colitis y la respuesta al
tratamiento. La colitis se puntúa usando criterios
25 conocidos en la técnica. El material fecal se recoge para el estudio.

En varios puntos de tiempo, se sacrifican los ratones y el colon, el intestino delgado, el bazo y los ganglios linfáticos (por ejemplo, los ganglios linfáticos
30 mesentéricos). Adicionalmente, la sangre se recoge en tubos de separación de suero. El daño tisular se evalúa a través de estudios histológicos que evalúan, pero sin limitación,

la arquitectura de la cripta, el grado de infiltración celular inflamatoria y agotamiento de las células caliciformes.

El tracto gastrointestinal (GI), los ganglios
5 linfáticos y/u otros tejidos se pueden extirpar para su análisis histológico *ex vivo*, de citocinas y de citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se cosechan los tejidos y pueden disociarse utilizando enzimas de disociación de acuerdo con las
10 instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-
15 CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además del inmunofenotipado, las
20 citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNF α , IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFN γ , GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas
25 se puede llevar a cabo en células inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias infiltradas en CD45+ infiltradas en el tracto GI purificadas obtenidas *ex vivo*. Finalmente, se llevan a cabo análisis inmunohistoquímicos en diversas secciones de
30 tejido para medir los niveles de células T, macrófagos, células dendríticas y expresión de la proteína de la molécula del punto de control.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos, puede volverse a exponer a algunos ratones a un desencadenante de la enfermedad. Los ratones se analizan
5 para determinar la susceptibilidad a la colitis y su gravedad después de la reexposición.

10

15

20

25

30

Ejemplo 19: Cepa A de *Prevotella histicola* y/o VE en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado (HTR)

La hipersensibilidad de tipo retardado (HTR) es un modelo animal de dermatitis de contacto (o dermatitis de contacto alérgica), según revisa Petersen et al. (In vivo pharmacological disease models for psoriasis and atopic dermatitis in drug discovery. Basic & Clinical Pharm & Toxicology. 2006. 99 (2): 104-115; véase también Irving C. Allen (ed.) Mouse Models of Innate Immunity: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 2013. vol. 1031, DOI 10.1007/978-1-62703-481-4_13). Se puede inducir en diversas cepas de ratón y rata usando diferentes haptenos o antígenos, por ejemplo, un antígeno emulsionado con adyuvante completo de Freund, (CFA) u otro adyuvante. La HTR se caracteriza por una sensibilización, así como por una reacción mediada por células T específicas de antígeno que produce eritema, edema e infiltración celular, especialmente infiltración de células presentadoras de antígeno (CPA), eosinófilos, células T CD4+ activadas y células Th2 que expresan citocinas.

En general, se sensibiliza a los ratones con un antígeno administrado en el contexto de un adyuvante (por ejemplo, adyuvante completo de Freund) con el fin de inducir una respuesta inmunitaria secundaria (o de memoria) medida mediante inflamación y título de anticuerpos específicos de antígeno.

La cepa A y/o las VE de *Prevotella histicola* se analizan para determinar su eficacia en el modelo de HTR en ratones, ya sea solo o en combinación, con o sin la adición de otros tratamientos antiinflamatorios. Por ejemplo, los ratones C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad se obtienen de Taconic (Germantown, NY) u otro proveedor. A los grupos de

ratones se les administran cuatro inyecciones subcutáneas (s.c.) en cuatro sitios en la parte posterior (superior e inferior) del antígeno (por ejemplo, hemocianina de lapa californiana (KLH) u ovoalbúmina (OVA)) a una dosis eficaz (50ul de volumen total por sitio). Para una respuesta HTR, se puede inyectar a los animales por vía intradérmica (i.d.) en los oídos usando métodos conocidos en la técnica. Algunos ratones sirven como animales de control. Algunos grupos de ratones pueden ser estimulados con 10 ul por oído (control del vehículo (DMSO al 0.01 % en solución salina) en el oído izquierdo y antígeno (aproximadamente 21.2 ug (12 nmol) en el oído derecho) el día 8. Para medir la inflamación del oído, el grosor de la oreja de los animales restringidos manualmente se puede medir usando un micrómetro Mitutoyo. El grosor de la oreja se puede medir antes de la exposición intradérmica como el nivel de referencia para cada animal individual. Posteriormente, el grosor de la oreja se puede medir dos veces después de la exposición intradérmica, aproximadamente a las 24 horas y a las 48 horas (es decir, días 9 y 10). El corticosteroide, dexametasona, se puede usar para un control positivo.

El tratamiento con VE se inicia en algún momento, ya sea en el momento de la sensibilización o alrededor del momento de la exposición a HTR. Por ejemplo, las VE pueden administrarse al mismo tiempo que las inyecciones subcutáneas (día 0) o pueden administrarse antes o después de la inyección intradérmica. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a

través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda oral, administración tópica, inyección intradérmica (i.d.) u otro medio de administración. Algunos ratones pueden
5 recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 0), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células
10 bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o eliminarse por calor antes de la administración.

Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir
15 entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como ocurre con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden
20 incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p., inyección i.d., administración tópica o administración por vía nasal.

Se inyectó a los ratones KLH y CFA i.d en 4 lugares a lo largo de la parte posterior (50 μ g por ratón de KLH
25 preparado en una relación 1:1 con CFA en un volumen total de 50 μ l por sitio). Los ratones recibieron las dosis durante 9 días de la siguiente manera; 1) administración oral de PBS anaerobio (vehículo); 2) administración oral de 10 mg de la cepa A de *Prevotella histicola*; 3)
30 administración oral de 100 μ g de VE derivadas de la cepa A de *P. histicola*; 4) administración i.p. de PBS; 5) administración i.p. d edexametasona (control positivo); y

6) administración i.p. de 10u g de VE derivadas de la cepa A. Para las VE, la proteína total se midió usando ensayos de Bio-rad (n.º de cat, 5000205) realizados según las instrucciones del fabricante. A las 24 y 48 horas después de la exposición a 10 ug de KLH (volumen de 10 ul), los grupos que recibieron la cepa A (células vivas) o las VE derivadas de la cepa A, en los grupos de administración oral e i.p, exhibieron menos inflamación que los grupos de vehículo (**Figuras 1A y 1B**). Se observó una respuesta de HTR dependiente de la dosis después de la inyección i.p. de VE derivadas de a cepa A a 10 µg, 3 µg, 1 µg y 0.1 µg en la reducción de la inflamación de la oreja específica de antígeno (espesor de la oreja) 48 horas después de la exposición al antígeno en un modelo de ratón de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH (**Fig. 1C**).

Se inyectó a los ratones KLH y CFA i.d en 4 lugares a lo largo de la parte posterior (50 µg por ratón de KLH preparado en una relación 1:1 con CFA en un volumen total de 50 µl por sitio). Los ratones recibieron las dosis durante 9 días de la siguiente manera; 1) administración oral de PBS anaerobio (vehículo); 2) administración oral de 10 mg de la cepa A de *Prevotella histicola*; 3) administración oral de 1×10^9 UFC de bimasa de la cepa A de *Prevotella histicola*; 4) administración oral de 2.09×10^8 UFC de bimasa de la cepa A de *Prevotella melanogenica*; 5) administración oral de 100 µg de VE derivadas de la cepa A de *P. histicola*; 6) administración oral de 100 µg de VE derivadas de la cepa A de *P. melanogenica*; y 7) administración i.p. de dexametasona (control positivo. Para las VE, la proteína total se midió usando ensayos de Bio-rad (n.º de cat, 5000205) realizados según las

instrucciones del fabricante. A las 24 y 48 horas después de la exposición a 10 ug de KLH (volumen de 10 ul), los grupos que recibieron la cepa A de *Prevotella histicola* (células vivas) o VE derivadas de la cepa A de *Prevotella histicola* exhibieron menos inflamación que los grupos de vehículos (**figuras 6A y 6B**). A las 24 y 48 horas después de la exposición a 10 ug de KLH (volumen de 10 ul), el grupo que recibió VE derivadas de la cepa A de *Prevotella melanogenica* exhibió menos inflamación que los grupos de vehículos y el grupo que recibió la cepa A de *Prevotella melanogenica* (**Figs. 6A y 6B**).

En otros experimentos, Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorio(s) (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia de TNF, u otro tratamiento), y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos momentos y en dosis eficaces. Asimismo, algunos ratones se pueden tratar con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o unos días antes del tratamiento. Algunos ratones inmunizados son tratados sin recibir antibióticos.

En varios puntos de tiempo, se extraen muestras de suero. Otros grupos de ratones se sacrifican y los ganglios linfáticos, el bazo, los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN), el intestino delgado, el colon y otros tejidos se pueden extirpar para estudios de histología, su análisis histológico *ex vivo*, de citocinas y de citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Se exanguina a algunos ratones desde el plexo orbital con anestesia con

O₂/CO₂ y se realizan ensayos ELISA.

Los tejidos se pueden disociar usando enzimas de disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el análisis mediante
5 citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de
10 células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se
15 analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFN γ , GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas puede llevarse a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u
20 otros tejidos, y/o en células inmunes infiltradas en el tracto GI CD45+ purificadas obtenidas *ex vivo*. Finalmente, se llevan a cabo análisis inmunohistoquímicos en diversas secciones de tejido para medir los niveles de células T, macrófagos, células dendríticas y expresión de la proteína
25 de la molécula del punto de control.

Se sensibilizó a los ratones fueron expuestos a KLH como se ha descrito anteriormente y, después de la medición de la inflamación de la oreja a las 48 horas, se sacrificó a los ratones.

30 Se extrajeron las orejas de los animales sacrificados y se colocaron en un cóctel de inhibidor de proteasa libre de EDTA (Roche). Las orejas se homogeneizaron usando rotura

con perlas y los sobrenadantes se analizaron para IL-1 β por kit Luminex (EMD Millipore) según las instrucciones del fabricante. Los ratones que se trataron con 10 μ g de VE DE *P. histicola* (i.p.) mostraron niveles de IL-1 β comparables a los observados en el grupo dexametasona (control positivo). (**Fig. 1D**). Las VE de *P. histicola* derivadas de la cepa A son capaces de suprimir las citocinas proinflamatorias.

Además, los ganglios linfáticos cervicales se disociaron a través de un filtro celular, se lavaron y se tiñeron para FoxP3 (PE-FJK-16s) y CD25 (FITC-PC61.5) utilizando métodos conocidos en la técnica (**Fig. 1E**). Los ratones tratados con 10 μ g de VE de *P. histicola* (i.p.) mostraron un aumento en Tregs en los ganglios linfáticos cervicales en relación con los ratones no expuestos previamente (control negativo), y comparable al grupo de dexametasona (control positivo). Las VE derivadas de la cepa A de *P. histicola* son capaces de inducir Tregs en los ganglios linfáticos drenantes de los ratones expuestos.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de HTR, en vez de sacrificarlos, puede volverse a exponer a algunos ratones al antígeno sensibilizante. Se analizó a los ratones para determinar la susceptibilidad a la HTR y la gravedad de la respuesta en diversos momentos.

Ejemplo 20: VE en un modelo de ratón de diabetes de tipo 1 (DT1)

La diabetes de tipo 1 (DT1) es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmunológico se dirige a los islotes de Langerhans del páncreas, por lo tanto, destruye la capacidad del cuerpo para producir insulina.

Hay varios modelos de modelos animales de DT1, según lo revisado por Belle et al. (Mouse models for type 1

diabetes. Drug Discov Today Dis Models. 2009; 6 (2): 41-45; véase también Aileen JF King. The use of animal models in diabetes research. Br J Pharmacol. 2012 Jun; 166 (3): 877-894. Hay modelos de DT1 inducida químicamente, DT1 inducida
5 por patógenos, así como modelos en los cuales los ratones desarrollan DTlespontáneamente.

Las VE se analizan para su eficacia en el modelo de ratón de DT1, ya sea solas o en combinación con células bacterianas enteras, con o sin la adición de otros
10 tratamientos antiinflamatorios.

Dependiendo del método de inducción de DT1 y/o si el desarrollo de DT1 es espontáneo, el tratamiento con VE se inicia en algún momento, ya sea alrededor del momento de la inducción o después de la inducción, o antes del inicio (o
15 al inicio) de la DT1 de origen espontáneo. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras
20 algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden
25 recibir VE todos los días, mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en
30 vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o eliminarse por calor antes de la

administración.

Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la
5 administración de VE. Como ocurre con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p. o administración por vía nasal.

10 Algunos grupos de ratones pueden tratarse con tratamientos adicionales y/o un control adecuado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) a varios puntos de tiempo y a dosis eficaces.

Además, algunos ratones son tratados con antibióticos
15 antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o unos días antes del tratamiento. Algunos ratones
20 inmunizados son tratados sin recibir antibióticos.

La glucosa en sangre se controla cada dos semanas antes del inicio del experimento. En varios momentos después de eso, se mide la glucosa en sangre sin ayunar. En varios puntos de tiempo, los ratones se sacrifican y
25 colocan el páncreas, los ganglios linfáticos u otros tejidos se pueden extirpar para su análisis histológico ex vivo y mediante citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los tejidos se disocian usando enzimas de disociación de acuerdo con las
30 instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden

incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFNy, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas puede llevarse a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias infiltradas en el tejido purificadas obtenidas ex vivo. Finalmente, se llevan a cabo análisis inmunohistoquímicos en diversas secciones de tejido para medir los niveles de células T, macrófagos, células dendríticas y expresión de la proteína de la molécula del punto de control. La producción de anticuerpos también puede evaluarse mediante ELISA.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos, puede volverse a exponer a algunos ratones a un desencadenante de la enfermedad o evaluar la susceptibilidad a recaídas. Se analiza la sensibilidad de los ratones a la aparición y gravedad de la diabetes después de la reexposición (o recaída espontánea).

Ejemplo 21: VE en un modelo de ratón de colangitis esclerosante primaria (CEP)

La colangitis esclerosante primaria (CEP) es una enfermedad hepática crónica que daña lentamente las vías

biliares y conduce a una cirrosis terminal. Se asocia con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII).

Hay varios modelos animales de CEP, según revisan Fickert et al. (Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC). J Hepatol. 2014 Jun. 60(6): 1290-1303; véase también Pollheimer y Fickert. Animal models in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. Clin Rev Allergy Immunol. 2015 Jun. 48(2-3): 207-17). La inducción de la enfermedad en los modelos de CEP incluye la inducción química (por ejemplo, colangitis inducida por 3.5-dietoxicarbonil-1.4-dihidrocolitina (DDC)), inducida por patógenos (por ejemplo, *Cryptosporidium parvum*), obstrucción biliar experimental (por ejemplo, ligadura del conducto colédoco (CBDL)) y modelo de ratón transgénico de lesión biliar dirigida por antígeno (por ejemplo, ratones transgénicos Ova-Bil). Por ejemplo, la ligadura del conducto colédoco se realiza como describen Georgiev et al. (Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation. Br J Surg. 2008. 95 (5): 646-56), o la enfermedad es inducida por exposición a DCC según lo descrito por Fickert et al. (A new xenobiotic-induced mouse model of sclerosing cholangitis and biliary fibrosis. Am J Path. Vol 171(2): 525-536.

Las VE se analizan para su eficacia en el modelo de ratón de CSP, ya sea solas o en combinación con células bacterianas enteras, con o sin la adición de algún otro agente terapéutico.

Colangitis inducida por DCC

Por ejemplo, Los ratones C57bl/6 de 6-8 semanas de edad se obtienen de Taconic u otro proveedor. Los ratones se alimentan con una dieta suplementada con DCC al 0.1 %

durante varias duraciones. Algunos grupos reciben alimentos con suplemento DCC durante 1 semana, otros durante 4 semanas, otros durante 8 semanas. Algunos grupos de ratones pueden recibir una dieta suplementada con DCC durante un
5 período de tiempo y luego pueden recuperarse, a partir de entonces recibir una dieta normal. Estos ratones pueden estudiarse por su capacidad para recuperarse de la enfermedad y/o su susceptibilidad a la recaída al exponerse posteriormente a DCC. El tratamiento con VE se inicia en
10 algún momento, ya sea alrededor del momento de la alimentación con DCC o después de la exposición inicial a DCC. Por ejemplo, Las VE pueden administrarse el día 1 o pueden administrarse en algún momento posterior. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos.
15 Por ejemplo, en algunos ratones se inyectan VE por vía intravenosa a 15, 20, o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50, 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección i.p., inyección
20 subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o
25 una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse
30 o eliminarse por calor antes de la administración. Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración

separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v.,
5 inyección i.p. o administración por vía nasal. Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agentes adicionales y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo) en diversos momentos y en dosis efectivas.

Además, algunos ratones son tratados con antibióticos
10 antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o
unos días antes del tratamiento. Algunos ratones
15 inmunizados son tratados sin recibir antibióticos. En varios puntos de tiempo, las muestras de suero se analizan para ALT, AP, bilirrubina y niveles de ácido biliar sérico (BA).

En varios puntos de tiempo, se sacrifica a los
20 ratones, se registran el peso corporal y del hígado, y los sitios de inflamación (por ejemplo, hígado, intestino delgado y grueso, bazo), los ganglios linfáticos u otros tejidos se pueden extirpar para la caracterización histomorfología ex vivo, análisis de citocinas y/o
25 análisis de citometría de flujo utilizando métodos conocidos en la técnica (véase Fickert et al. Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC)). J Hepatol. 2014. 60 (6): 1290-1303). Por ejemplo, los conductos biliares se tiñen para la
30 expresión de ICAM-1, VCAM-1, MadCAM-1. Algunos tejidos se tiñen para el examen histológico, mientras que otros se disocian usando enzimas de disociación de acuerdo con las

instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-
5 CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de
10 macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80), así como la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, MadCAM-1). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-
15 12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFN γ , GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas puede llevarse a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias CD45+ infiltradas en
20 el conducto biliar purificadas obtenidas ex vivo.

El tejido hepático se prepara para el análisis histológico, por ejemplo, usando tinción con rojo Sirius, seguido de la cuantificación del área fibrótica. Al final del tratamiento, se recoge sangre para el análisis en
25 plasma de las enzimas hepáticas, por ejemplo, AST o ALT, y para determinar los niveles de bilirrubina. El contenido hepático de hidroxiprolina se puede medir usando protocolos establecidos. El análisis de la expresión génica hepática de marcadores de inflamación y fibrosis se puede realizar
30 mediante qRT-PCR usando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero sin limitación, MCP-1, alfa-SMA, Col1a1 y TIMP-1. Las mediciones de metabolitos

pueden realizarse en plasma, muestras de tejidos y heces utilizando métodos metabolómicos establecidos. Finalmente, la inmunohistoquímica se lleva a cabo en secciones de hígado para medir neutrófilos, linfocitos T, macrófagos, 5 células dendríticas u otros infiltrados de células inmunitarias.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos, algunos ratones pueden volverse a exponer a DCC en un 10 momento posterior. Los ratones se analizan para determinar la susceptibilidad a la colangitis y la gravedad de la colangitis después de la reexposición.

Colangitis inducida por BDL

Como alternativa, Las VE se analizan para determinar 15 su eficacia en la colangitis inducida por BDL. Por ejemplo, los ratones C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad se obtienen de Taconic u otro proveedor. Después de un período de aclimatación, los ratones se someten a un procedimiento quirúrgico para realizar una ligadura del conducto biliar 20 (BDL). Algunos animales de control reciben una cirugía simulada. El procedimiento de BDL conduce a una lesión hepática, inflamación y fibrosis en 7-21 días.

El tratamiento con VE se inicia en algún momento, ya sea en el momento de la cirugía o en algún momento después 25 de la cirugía. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante 30 inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u otros medios de

administración. Algunos ratones reciben VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Grupos
5 adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor
10 antes de la administración. Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la
15 vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p. o administración por vía nasal. Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agentes adicionales y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo) en diversos
20 momentos y en dosis efectivas.

Además, algunos ratones son tratados con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento
25 con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o unos días antes del tratamiento. Algunos ratones inmunizados son tratados sin recibir antibióticos. En varios puntos de tiempo, las muestras de suero se analizan para ALT, AP, bilirrubina y niveles de ácido biliar sérico
30 (BA).

En varios puntos de tiempo, se sacrifica a los ratones, se registran el peso corporal y del hígado, y los

sitios de inflamación (por ejemplo, hígado, intestino delgado y grueso, bazo), los ganglios linfáticos u otros tejidos se pueden extirpar para la caracterización histolomorfológica *ex vivo*, análisis de citocinas y/o análisis de citometría de flujo utilizando métodos conocidos en la técnica (véase Fickert et al. Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC)). J Hepatol. 2014. 60 (6): 1290-1303). Por ejemplo, los conductos biliares se tiñen para la expresión de ICAM-1, VCAM-1, MadCAM-1. Algunos tejidos se tiñen para el examen histológico, mientras que otros se disocian usando enzimas de disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80), así como la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1, MadCAM-1). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFNy, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas puede llevarse a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias CD45+ infiltradas en el conducto biliar purificadas obtenidas *ex vivo*.

El tejido hepático se prepara para el análisis histológico, por ejemplo, usando tinción con rojo Sirius, seguido de la cuantificación del área fibrótica. Al final del tratamiento, se recoge sangre para el análisis en plasma de las enzimas hepáticas, por ejemplo, AST o ALT, y para determinar los niveles de bilirrubina. El contenido hepático de hidroxiprolina se puede medir usando protocolos establecidos. El análisis de la expresión génica hepática de marcadores de inflamación y fibrosis se puede realizar mediante qRT-PCR usando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero sin limitación, MCP-1, alfa-SMA, Col1a1 y TIMP-1. Las mediciones de metabolitos pueden realizarse en plasma, muestras de tejidos y heces utilizando métodos metabólicos establecidos. Finalmente, la inmunohistoquímica se lleva a cabo en secciones de hígado para medir neutrófilos, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas u otros infiltrados de células inmunitarias.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos, algunos ratones pueden analizarse para determinar la recuperación.

Ejemplo 22: Prevotella y/o VE de Prevotella en un modelo de ratón de esteatohepatitis no alcohólica (NASH)

La esteatohepatitis no alcohólica (NASH) es una forma grave de enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), donde la acumulación de grasa hepática (esteatosis) y la inflamación provocan lesión hepática y muerte de células hepatocitos (dilatación).

Hay varios modelos animales de NASH, según la revisión de Ibrahim et al. (Animal models of Nonalcoholic steatohepatitis: Eat, Delete, and Inflammation. Dig Dis Sci.

2016 May. 61 (5): 1325-1336; véase también Lau et al. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances 2017 Jan. 241(1): 36-44).

Las células bacterianas de *Prevotella histicola* y las
5 VE derivadas de *P. histicola* se prueban para determinar su
eficacia en un modelo de ratón de NASH, ya sea solas o en
combinación, en proporciones variables, con o sin la
adición de otro agente terapéutico. Por ejemplo, ratones
C57Bl/6J de 8 semanas de edad, obtenidos de Charles River
10 (Francia), u otro proveedor, se aclimataron durante un
período de 5 días, se aleatorizaron a grupos de 10 ratones
según el peso corporal, y se les alimentó con una dieta
deficiente en colina metionina (MCD), por ejemplo,
A02082002B de Research Diets (EE.UU.), durante un período
15 de 4 semanas durante el cual se desarrollaron las
características NASH, incluyendo esteatosis, inflamación,
dilatación y fibrosis. Los ratones con dieta control fueron
alimentados con una dieta de comida normal, por ejemplo,
RM1 (E) 801492 de SDS Diets (Reino Unido). El pienso
20 control, la dieta MCD y el agua se proporcionaron *ad libitum*.

El tratamiento con *P. histicola* (B-50329) viva
congelada se inició el día 1 de la dieta MCD para algunos
ratones y continuó durante 28 días consecutivos. A algunos
25 ratones alimentados con dieta MCD se les administraron
células bacterianas a través de la alimentación por sonda
oral diaria de 100 μ l de una suspensión que contenía
 1.47×10^9 células bacterianas. Los ratones alimentados con
pienso control y algunos de los alimentados con dieta MCD
30 permanecieron sin tratamiento, mientras que a algunos
ratones alimentados con dieta MCD se les administró
diariamente una solución de vehículo, a través de sonda

oral diaria, durante 28 días. A algunos ratones alimentados con la dieta MCD se les administró el compuesto de referencia y el agonista de FXR, ácido obetichólico (OCA; control positivo), a una dosis de 30mg/kg, a través de sonda oral diaria, durante 28 días. Al final del tratamiento (día 28), se sacrificó a los ratones y el hígado, el intestino delgado, el contenido luminal, la sangre y las heces, se extirparon para su análisis histológico I, bioquímico, análisis molecular o de citocinas y/o citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se almacenaron muestras de 0.5 cm³ de hígado en formalina durante 24 horas y luego en etanol a 4 °C, antes de la tinción con hematoxilina/eosina (H & E) y rojo Sirius, y se determinó la puntuación de actividad de NASH (NAS). El análisis histológico y la puntuación se llevaron a cabo en Histalim (Montpellier, Francia) de forma ciega. Los portaobjetos que contenían una sección del lóbulo hepático teñidas con H y E o rojo Sirius se digitalizaron usando un NanoZoomer y se visualizaron usando el visor NDP, ambos de Hamamatsu (Japón). Cada sección se evaluó y se puntuó individualmente. Un sistema de puntuación NAS adaptado de (Kleiner et al. (Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2005 Jun. 41(6): 1313-1321) se usó para determinar el grado de esteatosis (puntuación 0-3), inflamación lobular (puntuación 0-3), dilatación de los hepatocitos (puntuación 0-3) y fibrosis (puntuación 0-4). Se calculó una puntuación NAS de ratón individual sumando la puntuación de esteatosis, inflamación, dilatación y fibrosis (puntuación 0-13). Además, los niveles en plasma de AST y ALT se determinaron usando un instrumento Pentra 400 de Horiba

(EE.UU), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los niveles de colesterol total hepático, triglicéridos, ácidos grasos, alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa también se determinaron usando métodos
5 conocidos en la técnica.

En ratones que reciben la dieta MCD (inductora de NASH), la administración oral de *P. histicola* fue eficaz para reducir la puntuación de NAS en comparación con el vehículo y los grupo sin tratamiento (controles negativos)
10 (**Fig. 2**). *P. histicola* redujo la esteatosis (**Fig. 3A**), la inflamación (**Fig. 3B**) y la dilatación (**Fig. 3D**), así como los niveles de colesterol total hepático (**Fig. 4**). *P. histicola* también redujo la puntuación de fibrosis en ratones tratados (**Fig. 5A y Fig. 5B**).

15 La **Figura 7A** muestra el efecto de la cepa B-50329 de *P. histicola* sobre los ácidos grasos libres hepáticos en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD, La **Figura 7B** muestra el efecto de la cepa B-50329 de *P. histicola* sobre el colesterol total hepático en ratones que
20 fueron alimentados con una dieta de MCD, La **Figura 7C** muestra el efecto de la cepa B-50329 de *P. histicola* sobre los triglicéridos hepáticos en ratones que fueron alimentados con una dieta de MCD, la **Figura 7D** muestra el efecto de *P. histicola* y *P. melanogenica* sobre la alanina
25 aminotransferasa en ratones que fueron alimentados con una dieta MCD, la **Figura 7E** muestra el efecto de *P. histicola* y *P. melanogenica* sobre la aspartato aminotransferasa en ratones que fueron alimentados con una dieta MCD.

En ratones que reciben la dieta MCD (inductora de
30 NASH), la administración oral de *P. histicola* y *P. melanogenica* fue eficaz para reducir la puntuación de NAS en comparación con el vehículo y los grupo sin tratamiento

(controles negativos) (**Figs. 8A y 8B**).

En otros estudios, los análisis de la expresión génica hepática de los marcadores de inflamación, fibrosis, esteatosis, estrés por ER o estrés oxidativo se pueden
5 realizar mediante qRT-PCR usando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero sin limitación, IL-1 β , TNF- α , MCP-1, α -SMA, Col1a1, CHOP y NRF2.

En otros estudios, el tratamiento con VE se inicia en
algún momento, ya sea al comienzo de la dieta o en algún
10 momento después de la iniciación de la dieta (por ejemplo, una semana después). Por ejemplo, las VE pueden administrarse comenzando el mismo día que el inicio de la dieta de MCD. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos
15 ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea
20 (s.c.), administración por vía ruta nasal, sonda nasogástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o
25 una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse
30 o eliminarse por calor antes de la administración.

Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una

administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como ocurre con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden
5 incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p. o administración por vía nasal. Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agentes terapéuticos contra NASH adicionales (por ejemplo, agonistas de FXR, Agonistas PPAR, Antagonistas de CCR2/5 u otro tratamiento) y/o control
10 apropiado en varios puntos de tiempo y dosis eficaces.

En varios puntos de tiempo y/o al final del tratamiento, se sacrifica a los ratones y el hígado, el intestino, la sangre, las heces u otros tejidos se pueden extraer para su análisis ex vivo histológico, bioquímico,
15 análisis molecular o de citocinas y/o citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los tejidos del hígado se pesan y preparan para el análisis histológico, que puede comprender tinción con H y E, rojo Sirius, y la determinación de la puntuación de actividad NASH
20 (NAS). En varios puntos de tiempo, se recoge sangre para el análisis en plasma de las enzimas hepáticas, por ejemplo, AST o ALT, usando ensayos estándar. Además, el contenido hepático de colesterol, triglicéridos o ácidos grasos se puede medir usando protocolos establecidos. Los análisis de
25 la expresión génica hepática de los marcadores de inflamación, fibrosis, esteatosis, estrés por ER o estrés oxidativo se pueden realizar mediante qRT-PCR usando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero sin limitación, IL-6, MCP-1, alfa-SMA, Coll1a1, CHOP y
30 NRF2. Las mediciones de metabolitos pueden realizarse en plasma, muestras de tejidos y heces usando métodos establecidos de metabolómica bioquímica y espectrometría de

masas. Se analizan las citoCinas séricas, incluidas, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFNy, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de
5 citocinas puede llevarse a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias CD45+ infiltradas en el conducto biliar purificadas obtenidas ex vivo. Finalmente, se lleva a cabo análisis inmunohistoquímicos en secciones de hígado
10 o intestino para medir los niveles de neutrófilos, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas u otros infiltrados de células inmunitarias.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra enfermedades, en vez de sacrificarlos,
15 algunos ratones pueden analizarse para determinar la recuperación.

Ejemplo 23: VE en un modelo de ratón de psoriasis

La psoriasis es una enfermedad cutánea inflamatoria crónica mediada por células T. La llamada psoriasis de tipo
20 "en placas" es la forma más común de psoriasis y está tipificada por escamas secas, placas rojas y engrosamiento de la piel debido a la infiltración de células inmunitarias en la dermis y la epidermis. Varios modelos animales han contribuido a la comprensión de esta enfermedad, como se
25 indica en la reivisión de Gudjonsson et al. (Mouse models of psoriasis. J Invest Derm. 2007. 127: 1292-1308; véase también van der Fits et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. J. Immunol. 2009 May 1. 182 (9): 5836-45).

30 La psoriasis puede ser inducida en diversos modelos de ratones, incluidos aquellos que usan modelos transgénicos, defectivos o xenoinjertos, así como la aplicación tópica de

imiquimod (IMQ), un ligando de TLR7/8.

Las VE se evalúan para determinar su eficacia en el modelo de ratón de psoriasis, ya sea solas o en combinación con células bacterianas enteras, con o sin la adición de otros tratamientos antiinflamatorios. Por ejemplo, Los ratones C57Bl/6 o Balb/c de 6-8 semanas de edad se obtienen de Taconic (Germantown, NY) u otro proveedor. Se afeita la espalda y la oreja derecha de los ratones. Los grupos de ratones reciben una dosis tópica diaria de 62.5 mg de crema IMQ comercialmente disponible (5 %) (Aldara; 3M Pharmaceuticals). La dosis se aplica a las áreas afeitadas durante 5 o 6 días consecutivos. A intervalos regulares, se puntúa en los ratones el eritema, las escamas y el engrosamiento en una escala de 0 a 4, como se describe en van der Fits et al. (2009). Se monitoriza a los ratones para evaluar el espesor de la oreja usando un micrómetro Mitutoyo.

El tratamiento con VE se inicia en algún momento, ya sea en el momento de la primera aplicación de IMQ, o algo después. Por ejemplo, las VE pueden administrarse al mismo tiempo que las inyecciones subcutáneas (día 0) o pueden administrarse antes o después de la aplicación. Las VE se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, se inyecta a algunos ratones por vía intravenosa con VE a 15, 20 o 15 ug/ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de VE por ratón. Mientras algunos ratones reciben VE mediante inyección i.v., otros ratones pueden recibir VE a través de inyección intraperitoneal (i.p.), administración por vía ruta nasal, sonda oral, administración tópica, inyección intradérmica (i.d.), inyección subcutánea (s.c.) u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir VE todos los

días (por ejemplo, comenzando el día 0), mientras que otros pueden recibir VE en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de
5 células bacterianas a VE. Las células bacterianas pueden estar en vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden cosecharse frescas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o eliminarse por calor antes de la administración.

10 Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración separada de, o mezclada con, la administración de VE. Como ocurre con las VE, la administración de células bacterianas puede variar según la
15 vía de administración, la dosis y el régimen. Estas pueden incluir sonda oral, inyección i.v., inyección i.p., inyección i.d., inyección s.c., administración tópica o administración por vía nasal.

Algunos grupos de ratones se pueden tratar con
20 agente(s) antiinflamatorio(s) (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia de TNF, u otro tratamiento), y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos momentos y en dosis eficaces.

25 Además, algunos ratones son tratados con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) se añaden al agua de bebida y el tratamiento con antibióticos se detiene en el momento del tratamiento o
30 unos días antes del tratamiento. Algunos ratones inmunizados son tratados sin recibir antibióticos.

En varios puntos de tiempo, se toman muestras de la

piel de la espalda y la oreja para el análisis de tinción de criosección usando métodos conocidos en la técnica. Otros grupos de ratones se sacrifican y los ganglios linfáticos, el bazo, los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN), el intestino delgado, el colon y otros tejidos pueden extirparse para estudios histológicos, análisis ex vivo de histología, citocinas y/o citometría de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Algunos tejidos pueden disociarse utilizando enzimas de disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las muestras de criosección, las muestras de tejido o las células obtenidas ex vivo se tiñen para su análisis mediante citometría de flujo usando técnicas conocidas en la materia. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células dendríticas), anti-CD80, anti-CD86, anti-CD40, anti-MHCII, anti-CD8a, anti-CD4 y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunitarias CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzima B, CD69, PD-1, CTLA-4) y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además del inmunofenotipado, las citocinas séricas se analizan, incluyendo, pero sin limitación, TNFa, IL-17, IL-13, IL-12p70, IL12p40, IL-10, IL-6, IL-5, IL-4, IL-2, IL-1b, IFN γ , GM-CSF, G-CSF, M-CSF, MIG, IP10, MIP1b, RANTES y MCP-1. El análisis de citocinas puede llevarse a cabo en células inmunitarias obtenidas de ganglios linfáticos u otros tejidos, y/o en células inmunitarias CD45 + nfiltradas en la piel purificadas obtenidas ex vivo. Finalmente, se llevan a cabo análisis inmunohistoquímicos en diversas secciones de tejido para medir los niveles de células T, macrófagos, células dendríticas y expresión de

la proteína de la molécula del punto de control.

Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la psoriasis, en vez de sacrificarlos, algunos ratones pueden ser estudiados para evaluar la recuperación,
5 o pueden volverse a exponer a IMQ. Los grupos de ratones que se reexponen se analizan para determinar la susceptibilidad a la psoriasis y la intensidad de la respuesta.

Ejemplo 24: Condiciones de fabricación

10 Se usan medios enriquecidos para cultivar y preparar la bacteria para su uso *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, los medios pueden contener azúcar, extractos de levadura, peptonas a base de plantas, tampones, sales, oligoelementos, tensioactivos, agentes antiespumantes y
15 vitaminas. La composición de componentes complejos, tales como los extractos de levadura y peptonas, puede ser indefinida o parcialmente definida (incluidas las concentraciones aproximadas de aminoácidos, azúcares, etc.). El metabolismo microbiano puede depender de la
20 disponibilidad de recursos como carbono y nitrógeno. Se pueden analizar varios azúcares u otras fuentes de carbono. Como alternativa, los medios pueden prepararse y la bacteria seleccionada puede crecer como se muestra en Saarela et al., *J. Applied Microbiology*. 2005. 99: 1330-
25 1339, que se incorpora por referencia en el presente documento. Influencia del tiempo de fermentación, el crioprotector y la neutralización del concentrado celular en la supervivencia por liofilización, la estabilidad de almacenamiento y la exposición a ácidos y biliar a la
30 bacteria seleccionada producida sin ingredientes a base de leche.

A gran escala, los medios están esterilizados. La

esterilización puede realizarse mediante un proceso de temperatura ultraalta (UHT). El procesamiento UHT se realiza a temperatura muy alta durante cortos períodos de tiempo. El rango de UHT puede ser de 135-180 °C. Por ejemplo, el medio puede esterilizarse entre 10 y 30 segundos a 135 °C.

El inóculo se puede preparar en matraces o en biorreactores más pequeños y se controla el crecimiento. Por ejemplo, el tamaño del inóculo puede estar entre aproximadamente 0.5 y 3 % del volumen total del biorreactor. Dependiendo de la aplicación y la necesidad de material, el volumen del biorreactor puede ser de al menos 2 l, 10 l, 80 l, 100 l, 250 l, 1.000 l, 2.500 l, 5.000 l, 10.000 l.

Antes de la inoculación, el biorreactor se prepara con medio al pH, la temperatura y la concentración de oxígeno deseados. El pH inicial del medio de cultivo puede ser diferente al del punto de ajuste del proceso. El estrés de pH puede ser perjudicial para una concentración celular baja; el pH inicial podría estar entre pH 7.5 y el punto de ajuste del proceso. Por ejemplo, el pH puede establecerse entre 4.5 y 8.0. Durante la fermentación, el pH puede controlarse mediante el uso de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o hidróxido de amonio. La temperatura puede controlarse de 250 °C a 450 °C, for example at 37 °C. Se crean condiciones anaerobias mediante reducción del nivel de oxígeno en el caldo de cultivo de aproximadamente 8mg/l a 0 mg/l. Por ejemplo, se pueden usar mezclas de nitrógeno o gas (N₂, CO₂ y H₂) para establecer condiciones anaerobias. Como alternativa, no se usan gases y las condiciones anaerobias se establecen mediante células que consumen el oxígeno restante del medio. Dependiendo de la

cepa y el tamaño del inóculo, el tiempo de fermentación del biorreactor puede variar. Por ejemplo, el tiempo de fermentación puede variar de aproximadamente 5 horas a 48 horas.

5 Revivir los microbios desde un estado congelado puede requerir consideraciones especiales. El medio de producción puede estresar a las células después de una descongelación; puede ser necesario un medio de descongelamiento específico para iniciar sistemáticamente un tren de siembra a partir
10 del material descongelado. La cinética de la transferencia o el paso de material de siembra a medio nuevo, con el propósito de aumentar el volumen de siembra o mantener el estado de crecimiento microbiano, puede estar influido por el estado actual de los microbios (por ejemplo, crecimiento
15 exponencial, crecimiento estacionario, no estresado, estresado).

La inoculación del (los) fermentador (es) de producción puede (n) afectar a la cinética del crecimiento y la actividad celular. El estado inicial del sistema del
20 biorreactor debe optimizarse para facilitar una producción exitosa y consistente. La fracción de cultivo de siembra con respecto al medio total (por ejemplo, un porcentaje) tiene un impacto muy grande sobre la cinética de crecimiento. El intervalo puede ser 1-5 % del volumen de
25 trabajo del fermentador. El pH inicial del medio de cultivo puede ser diferente del punto de ajuste del proceso. El estrés por pH puede ser perjudicial a baja concentración celular; el pH inicial puede estar entre pH 7.5 y el punto de ajuste del proceso. La agitación y el flujo de gas en el
30 sistema durante la inoculación pueden ser diferentes de los puntos de ajuste del proceso. Las tensiones físicas y químicas debido a ambas condiciones pueden ser

perjudiciales a una baja concentración celular.

Las condiciones del proceso y las configuraciones de control pueden influir sobre la cinética del crecimiento microbiano y la actividad celular. Los cambios en las condiciones del proceso pueden cambiar la composición de la membrana, la producción de metabolitos, la tasa de crecimiento, el estrés celular, etc. El intervalo óptimo de temperatura para el crecimiento puede variar con la cepa. El intervalo puede ser de 20-40 °C El pH óptimo para el crecimiento celular y el rendimiento de la actividad corriente abajo pueden variar con la cepa. El intervalo puede ser pH 5-8. Los gases disueltos en el medio pueden ser utilizados por las células para el metabolismo. Puede ser necesario ajusta las concentraciones de O₂, CO₂ y N₂ durante todo el proceso. La disponibilidad de nutrientes puede desplazar el crecimiento celular. Los microbios pueden tener una cinética alternativa cuando hay exceso de nutrientes.

El estado de los microbios al final de la fermentación y durante la cosecha puede afectar a la supervivencia y actividad de la célula. Los microbios pueden preacondicionarse poco antes de la cosecha para prepararlos mejor para las tensiones físicas y químicas implicadas en la separación y el procesamiento posterior. Un cambio en la temperatura (a menudo reduciendo a 20-5 °C) puede reducir el metabolismo celular, ralentizar el crecimiento (y/o muerte) y producir cambios fisiológicos cuando se retira del fermentador. La efectividad de la concentración centrífuga puede estar influenciada por el pH del cultivo. Aumentar el pH en 1-2 puntos puede mejorar la eficacia de la concentración, pero también puede ser perjudicial para las células. Los microbios se pueden someter a estrés poco

antes de la cosecha aumentando la concentración de sales y/o azúcares en el medio. Las células estresadas de esta manera pueden sobrevivir mejor a la congelación y liofilización durante el flujo descendente.

5 Los métodos y la tecnología de separación pueden afectar a la eficacia con que se separan los microbios del medio de cultivo. Los sólidos pueden eliminarse usando técnicas de centrifugación. La eficacia de la concentración centrífuga puede verse influida por el pH del cultivo o por
10 el uso de agentes floculantes. Aumentar el pH en 1-2 puntos puede mejorar la eficacia de la concentración, pero también puede ser perjudicial para las células. Los microbios se pueden someter a estrés poco antes de la cosecha aumentando la concentración de sales y/o azúcares en el medio. Las
15 células estresadas de esta manera pueden sobrevivir mejor a la congelación y liofilización durante el flujo descendente. Adicionalmente, Los microbios también pueden separarse por filtración. La filtración es superior a las técnicas de centrifugación para la purificación si las
20 células requieren excesivos g-minutos para centrifugar con éxito. Los excipientes se pueden añadir antes de la separación. Se pueden añadir excipientes para protección criogénica o para protección durante la liofilización. Los excipientes pueden incluir, pero sin limitación, sacarosa,
25 trehalosa, o lactosa, y estos pueden mezclarse, alternativamente, con tampón y antioxidantes. Antes de la liofilización, las gotas de sedimentos celulares mezcladas con excipientes se sumergen en nitrógeno líquido.

 La cosecha puede realizarse por centrifugación
30 continua. El producto puede resuspenderse con diversos excipientes hasta una concentración final deseada. Se pueden añadir excipientes para protección criogénica o para

protección durante la liofilización. Los excipientes pueden incluir, pero sin limitación, sacarosa, trehalosa, o lactosa, y estos pueden mezclarse, alternativamente, con tampón y antioxidantes. Antes de la liofilización, las
5 gotas de sedimentos celulares mezcladas con excipientes se sumergen en nitrógeno líquido.

La liofilización de material, incluyendo bacterias vivas, comienza con el secado primario. Durante la fase de secado primario, se retira el hielo. En el presente
10 documento, se genera un vacío y se suministra una cantidad apropiada de calor al material para que la sublimación del hielo. Durante la fase secundaria de secado, se retiran las moléculas de agua ligadas al producto. En el presente documento, la temperatura se eleva más que en la fase de
15 secado primaria para romper cualquier interacción físicoquímica que se haya formado entre las moléculas de agua y el material del producto. La presión también puede reducirse aún más para mejorar la desorción durante esta etapa. Después de completar el proceso de liofilización, la
20 cámara puede llenarse con un gas inerte, tal como nitrógeno. El producto puede sellarse dentro del liofilizador en condiciones de sequedad, evitando la exposición al agua atmosférica y a contaminantes.

Ejemplo 25: *P. histicola* en un modelo de ratón de
25 **encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE)**

Como se ha tratado anteriormente en el Ejemplo 16, la EAE es un modelo animal bien estudiado de esclerosis múltiple.

El polvo de las bacterias *Prevotella* se analiza para
30 determinar su eficacia en un modelo de roedores con EAE. Los ratones hembra C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad se obtienen de Taconic (Germantown, NY). A los grupos de

ratones se les administran dos inyecciones subcutáneas (s.c.) en dos sitios en la parte posterior (superior e inferior) de 0.1 ml de glicoproteína oligodentrocítica de mielina 35-55 (MOG35-55; 100 µg por inyección; 200 µg por ratón (total de 0.2 ml por ratón)), emulsionado en adyuvante completo de Freund (CFA; 2-5 mg mató Mycobacterium tuberculosis H37Ra/ml de emulsión). Aproximadamente 1-2 horas después de lo anterior, a los ratones se les inyecta intraperitonealmente (i.p.) 200 ng de toxina pertussis (PTx) en 0.1 ml de PBS (2 ug/ml). Se administra una inyección i.p. adicional de PTx el día 2. Algunos animales servirán como controles no expuestos previamente. La gravedad de la EAE se evalúa y se asigna un puntuación de discapacidad diariamente comenzando el día 4 de acuerdo con la escala de puntuación que se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3: Escala de puntuación de la EAE.

Puntuación	Descripción
0	Normal: Cuando se le coge por la cola, la cola tiene tensión y está erecta. Las patas traseras generalmente están separadas. Cuando el ratón está caminando, no hay inclinación de la marcha ni de la cabeza.
1	Debilitamiento de la cola: Cuando se coge al ratón por la cola, en lugar de estar erecta, toda la cola cae a lo largo del dedo.
2	Debilitamiento de la cola y de la pata trasera: Cuando se coge al ratón por la cola, las patas no se separan, sino que ese mantienen juntas. Cuando se observa caminar al ratón, tiene un marcha temblorosa claramente evidente. Como alternativa, una pata puede estar completamente

Puntuación	Descripción
	paralizada mientras la otra pata permanece móvil; el ratón arrastrará la pata paralizada al caminar.
5	3
10	Debilitamiento de la cola y parálisis completa de las patas traseras (más común) -O- Debilitamiento de la con parálisis de una pata delantera y otra trasera -O- Todo lo siguiente: Inclínación intensa de la cabeza, camina solo a lo largo de los bordes de la jaula, se empuja contra la pared de la jaula, gira cuando se le coge por la cola.
15	4
20	Debilitamiento de la cola, parálisis completa de la pata trasera y parcial de la pata delantera: El ratón se mueve mínimamente alrededor de la jaula pero parece estar alerta y alimentándose. El animal será sacrificado si se observa una puntuación de 4 durante 2 días consecutivos. Si esto ocurre, la puntuación se considera un 5.
25	5
30	Parálisis completa de la pata trasera y 1 de la pata delantera, sin movimiento alrededor de la jaula -O- El ratón rueda espontáneamente en la jaula -O- El ratón se encuentra muerto o moribundo Los ratones que se encuentren vivos con una puntuación de 5 serán sacrificados de

Puntuación	Descripción
	inmediato.

Los tratamientos se administran por sonda oral (PO). A los animales tratados se les administra vehículo de sacarosa/0.5 % de MC, bacterias *P. histicola*/0.5 % de MC o prednisolona. Los animales del Grupo 1 sirven como controles intactos. Los animales del Grupo 2 sirven como controles enfermos sin tratamiento. Los animales del Grupo 3 recibe Q2D vehículo de sacarosa desde los días 7-30 y QD con 0.5 % de MC desde los días 3-30. Los animales del Grupo 4 reciben Q2D *P. histicola* en polvo (10 mg) desde los días 7-30 y QD 0.5 % de MC desde los días 3-30. Los animales del Grupo 5 reciben QD prednisolona (1 mg/kg) desde los días 0-30.

Como se muestra en la Figura 9, *P. histicola* fue eficaz en el modelo de EAE en comparación con los tratamientos de control.

Incorporación por referencia

Todas las solicitudes de patentes de publicaciones mencionadas en el presente documento se incorporan por referencia en su totalidad como si cada publicación individual o solicitud de patente se indicara específica e individualmente para su incorporación por referencia. En caso de conflicto, la presente solicitud, incluyendo cualquier definición en el presente documento, regirá.

Equivalentes

Los expertos en la materia reconocerán o serán capaces de determinar, usando nada más que la experimentación habitual, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en el presente documento. Se entiende que dichos equivalentes están dentro

de las reivindicaciones siguientes.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el
mejor método conocido por la solicitante para llevar a la
práctica la citada invención, es el que resulta claro de la
5 presente descripción de la invención.

10

15

20

25

30