

Composiciones y métodos para el tratamiento del cáncer y de trastornos inmunitarios usando bacterias de *Veillonella*

5 SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad para las Solicitudes de Patente Provisional de EE.UU. que tienen los números de serie 62/626.789, presentada el 6 de febrero de 2018, 62/666.944, presentada el 4 de mayo
10 de 2018, y 62/703.269, presentada el 25 de julio de 2018, cada uno de los contenidos se incorporan por la presente en el presente documento en su totalidad.

SUMARIO

[0002] En ciertos aspectos, en el presente documento
15 se proporcionan métodos y composiciones (por ejemplo, composiciones bacterianas, composiciones farmacéuticas) relacionadas con el tratamiento y/o la prevención de enfermedades (por ejemplo, cáncer, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad inflamatoria, enfermedad metabólica) en un sujeto
20 (por ejemplo, un sujeto humano) que comprenden administrar una composición bacteriana que comprende bacterias del género *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) y/o un producto de tales bacterias (por ejemplo, vesículas extracelulares (EV) y/o biomasas
25 farmacéuticamente activas (PhAB)). También se proporcionan en el presente documento métodos para fabricar y/o identificar dicha bacteria y/o producto bacteriano. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan biorreactores que comprenden tales bacterias. En algunas
30 realizaciones, las bacterias del género *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) son

una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, las bacterias son 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 las cepas bacterianas enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la administración de la composición bacteriana trata el trastorno inmunitario en el sujeto. En algunas realizaciones, el trastorno inmunitario es una enfermedad autoinmunitaria. En algunas realizaciones, el trastorno inmunitario es una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, el trastorno inmunitario es una alergia.

[0003] En algunas realizaciones, en el presente documento se proporcionan vesículas extracelulares (EV) producidas por y/o generadas por y/o aisladas de bacterias *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) proporcionadas en el presente documento. En algunas realizaciones, las composiciones bacterianas comprenden tanto EV de *Veillonella* como bacterias *Veillonella* completas (por ejemplo, bacterias vivas, bacterias muertas, bacterias atenuadas). En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones bacterianas que comprenden bacterias de *Veillonella* en ausencia de EV de *Veillonella*. En algunas realizaciones, las composiciones

farmacéuticas comprenden EV de *Veillonella* en ausencia de bacterias de *Veillonella*.

[0004] En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos de tratamiento de un sujeto que tiene un trastorno inmunitario (por ejemplo, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una alergia), que comprenden la administración al sujeto de una composición bacteriana que comprende una bacteria de *Veillonella* (por ejemplo, una bacteria muerta, una bacteria viva y/o una bacteria atenuada). En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos de tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad metabólica que comprenden administrar al sujeto una composición bacteriana descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, la bacteria es una ceba de bacterias enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la bacteria es 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, identidad de secuencia genómica, identidad de secuencia 16S, identidad de secuencia CRISPR) (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 correspondiente secuencia de nucleótidos de las cepas bacterianas enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o el 99 % de las bacterias en la composición bacteriana son cepas bacterianas enumeradas

en la Tabla 1. En algunas realizaciones, todas o sustancialmente todas las bacterias en la formulación bacteriana son cepas bacterianas enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la formulación bacteriana comprende al menos 1×10^5 , 5×10^5 , 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 o 1×10^9 unidades formadoras de colonias de bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1).

[0005] En determinadas realizaciones, en el presente documento se proporcionan métodos de tratamiento de un sujeto que tiene cáncer que comprenden la administración al sujeto de una composición bacteriana descrita en el presente documento.

[0006] En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un antibiótico. En algunas realizaciones, el método comprende además la administración al sujeto de una u otras terapias más de cáncer (por ejemplo, la extirpación quirúrgica de un tumor, la administración de un agente quimioterapéutico, la administración de radioterapia y/o la administración de inmunoterapia en cáncer, tal como un inhibidor del punto de control inmunitario, un anticuerpo específico del cáncer, una vacuna contra el cáncer, una célula presentadora de antígeno sensibilizada, un linfocito T específico del cáncer, un linfocito T receptor de antígeno quimérico (CAR) específico de cáncer, una proteína inmunoactivadora y/o un adyuvante).

[0007] En algunas realizaciones, el método comprende además la administración de otra bacteria terapéutica. 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 de enfermedad metabólica.

[0008] En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones bacterianas que comprenden una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1 (por ejemplo, una bacteria muerta, una bacteria viva y/o una bacteria atenuada) y/o un producto de tales bacterias (por ejemplo, vesículas extracelulares (EV) y/o biomasas farmacéuticamente activas (PhAB)). En algunas realizaciones, al menos el 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o el 99 % de las bacterias en la composición bacteriana son una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, las bacterias son una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, las bacterias son una cepa que comprende al menos el 99 % de identidad de secuencia (por ejemplo, identidad de secuencia genómica, identidad de secuencia 16S, identidad de secuencia CRISPR) (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 de la cepa de las bacterias enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, todas o sustancialmente todas las bacterias en la formulación bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la formulación bacteriana comprende al menos 1×10^5 , 5×10^5 , 1

x 10^6 , 2 x 10^6 , 3 x 10^6 , 4 x 10^6 , 5 x 10^6 , 6 x 10^6 , 7 x 10^6 , 8 x 10^6 , 9 x 10^6 , 1 x 10^7 , 2 x 10^7 , 3 x 10^7 , 4 x 10^7 , 5 x 10^7 , 6 x 10^7 , 7 x 10^7 , 8 x 10^7 , 9 x 10^7 , 1 x 10^8 , 2 x 10^8 , 3 x 10^8 , 4 x 10^8 , 5 x 10^8 , 6 x 10^8 , 7 x 10^8 , 8 x 10^8 , 9 x 10^8 o 1 x 10^9 unidades formadoras de colonias de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la composición bacteriana comprende EV y/o PhAB (por ejemplo, células completas, fracciones de células, sobrenadante de la fermentación, fracciones de sobrenadante y/o vesículas extracelulares) hechas de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

[0009] En algunas realizaciones, la composición bacteriana se administra por vía oral, intravenosa, intratumoral o subcutánea. En algunas realizaciones, la composición bacteriana se administra en 2 o más (por ejemplo, 3 o más, 4 o más, o 5 o más dosis). En algunas realizaciones, la administración al sujeto de las dos o más dosis se separan por al menos 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas, 7 horas, 8 horas, 9 horas, 10 horas, 11 horas, 12 horas, 13 horas, 14 horas, 15 horas, 16 horas, 17 horas, 18 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días o 21 días. En algunas realizaciones, se administra una segunda bacteria como parte de un consorcio ecológico.

[0010] En ciertas realizaciones, la composición comprende una proporción específica de bacterias de *Veillonella* frente a partículas de EV de *Veillonella*. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos 1 bacteria de *Veillonella* para 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,
 5 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,
 10 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 ,
 15 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 ,
 20 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} partículas de EV de
 25 *Veillonella*. En algunas realizaciones, la composición
 farmacéutica comprende aproximadamente 1 bacteria de
Veillonella para 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,
 30 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,
 5 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,
 10 500, 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 ,
 15 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
 20 1×10^{12} partículas de EV de *Veillonella*. En algunas
 realizaciones, la composición farmacéutica comprende no más de
 1 bacteria de *Veillonella* para 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, 13, 14, 15, 16, 17,
 30 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} partículas de EV de *Veillonella*. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos 1 partícula de EV de *Veillonella* para 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} bacteria de *Veillonella*. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 1 partícula de EV de *Veillonella* para 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 ,

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,
 7x10⁷, 8x10⁷, 9x10⁷, 1x10⁸, 2x10⁸, 3x10⁸, 4x10⁸, 5x10⁸, 6x10⁸,
 5 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 bacterias de
 10 *Veillonella*. En algunas realizaciones, la composición
 farmacéutica comprende no más de 1 partícula de EV de
Veillonella para 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,
 15 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 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,
 25 500, 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, 7x10⁵, 8x10⁵, 9x10⁵, 1x10⁶, 2x10⁶,
 3x10⁶, 4x10⁶, 5x10⁶, 6x10⁶, 7x10⁶, 8x10⁶, 9x10⁶, 1x10⁷, 2x10⁷,
 30 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
5 1x10¹² bacterias de *Veillonella*.

[0011] En ciertas realizaciones, la composición bacteriana suprime la respuesta inmunitaria en la hipersensibilidad de tipo retardado (DTH). En ciertas realizaciones, la composición bacteriana induce un linfocito T regulador o una respuesta antiinflamatoria. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana inhibe respuestas específicas de antígeno. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la dermatitis alérgica de contacto. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la miocarditis autoinmune. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la diabetes mellitus tipo 1. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata granulomas. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata neuropatías periféricas. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la tiroiditis de Hashimoto. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la esclerosis múltiple. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la artritis reumatoide.

[0012] En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la inflamación del colon. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis. La colitis puede ser aguda y autolimitada o a largo plazo. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis ulcerosa. En ciertas realizaciones, la composición

bacteriana trata enfermedades digestivas. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la enfermedad de Crohn. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis microscópica. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis colágena. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis por derivación. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis química. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis isquémica. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis indeterminada. En ciertas realizaciones, la composición bacteriana trata la colitis atípica. En ciertas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto un agente terapéutico adicional (por ejemplo, un antibiótico, un inmunosupresor, un agente antiinflamatorio). En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al sujeto una segunda bacteria terapéutica.

[0013] En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero no humano (por ejemplo, un perro, un gato, una vaca, un caballo, un cerdo, un burro, una cabra, un camello, un ratón, una rata, un cobaya, una oveja, una llama, un mono, un gorila o un chimpancé).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0014] La Fig. 1 muestra la eficacia de *Veillonella* cepas A, B y C administradas por vía oral en la reducción de la inflamación de la oreja (espesor de la oreja) específica de

antígeno a las 24 horas en comparación con el vehículo (control negativo), dexametasona antiinflamatoria (control positivo) y *Bifidobacterium animalis lactis* en un modelo de hipersensibilidad de tipo retardado en ratón basado en KLH.

5 **[0015]** La **Fig. 2** muestra la eficacia de *Veillonella* cepa B irradiada (25kGy) administrada en la reducción de la inflamación de la oreja (espesor de la oreja) específica de antígeno a las 24 horas en comparación con el vehículo (control negativo) tras la exposición al antígeno en un modelo de
10 hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH. Tanto la cepa B de *Veillonella* viva como la irradiada fueron eficaces en la inhibición de la inflamación de la oreja, pero la *Veillonella* cepa B irradiada fue incluso más eficaz que la cepa B viva, y fue incluso más eficaz que el control positivo,
15 dexametasona. Tanto el grupo de la cepa C de *Veillonella* viable como el de la irradiada demostraron eficacia pero, a diferencia de la irradiación de la cepa B, la irradiación de la cepa C de *Veillonella* ni mejoró ni redujo su eficacia.

20 **[0016]** La **Fig. 3** muestra la eficacia de *Veillonella* cepa B irradiada (25kGy) administrada en la reducción de la inflamación de la oreja (espesor de la oreja) específica de antígeno a las 48 horas en comparación con el vehículo (control negativo) tras la exposición al antígeno en un modelo de
25 hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH. Tanto la cepa B de *Veillonella* viva como la irradiada fueron eficaces en la inhibición de la inflamación de la oreja, pero la *Veillonella* cepa B irradiada fue incluso más eficaz que la cepa B viva, y fue incluso más eficaz que el control positivo, dexametasona. Tanto el grupo de la cepa C de *Veillonella* viable
30 como el de la irradiada demostraron eficacia pero, a diferencia

de la irradiación de la cepa B, la irradiación de la cepa C de *Veillonella* ni mejoró ni redujo su eficacia.

[0017] La Fig. 4 muestra la eficacia de las EV de *Veillonella* cepas A y B en comparación con anti-PD-1 o vehículo
5 inyectado por vía intraperitoneal (i.p.) en un modelo de carcinoma colorrectal en ratón.

[0018] La Fig. 5 muestra la eficacia de las EV de *Veillonella* cepas A y B en comparación con anti-PD-1 o vehículo
10 inyectado por vía intraperitoneal (i.p.) en un modelo de carcinoma colorrectal en ratón en el día 11.

[0019] La Fig. 6 muestra la eficacia de las EV de *Veillonella* cepas A y B dependiente de la dosis y de la vía de
administración en comparación con anti-PD-1 o vehículo
15 inyectado por vía intraperitoneal (i.p.) en un modelo de carcinoma colorrectal en ratón.

[0020] La Fig. 7 muestra la eficacia de las EV de *Veillonella* cepas A y B dependiente de la dosis y de la vía de
administración en comparación con anti-PD-1 o vehículo
20 inyectado por vía intraperitoneal (i.p.) en un modelo de carcinoma colorrectal en ratón en el día 11.

[0021] La Fig. 8 muestra la eficacia de *Veillonella* cepas D, E, F y G irradiadas (25kGy) en la reducción de la
inflamación de la oreja (espesor de la oreja) específica de
25 antígeno a las 24 horas en comparación con el vehículo (control negativo) y dexametasona antiinflamatoria (control positivo) en un modelo de hipersensibilidad en ratón de tipo retardado basado en KLH.

[0022] La Fig. 9 muestra la eficacia de *Veillonella* cepas B, E, F y G irradiadas (25kGy) en la reducción de la
30 inflamación de la oreja (espesor de la oreja) específica de

antígeno a las 24 horas en comparación con el vehículo (control negativo) y dexametasona antiinflamatoria (control positivo) tras la exposición al antígeno en un modelo de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH. Ambas cepas B y E de *Veillonella* irradiadas fueron eficaces en la inhibición de la inflamación de la oreja, pero la cepa E de *Veillonella* irradiada fue incluso más eficaz que la cepa E viva. Para la cepa F de *Veillonella*, la irradiación gamma provocó que una cepa no funcional de *Veillonella* se volviera eficaz. Todos los grupos recibieron 10 mg del polvo por dosis.

[0023] La Fig. 10 muestra que *Veillonella* cepa C fue eficaz en la reducción de la puntuación de la actividad NASH (NAS) en ratones que reciben una dieta de metionina colina deficiente (MCD), que induce síntomas de NASH.

[0024] La Fig. 11 muestra que *Veillonella* cepa C redujo la fibrosis en ratones que fueron alimentados con dieta MCD.

[0025] La Fig. 12 muestra que *Veillonella* cepa C redujo el colesterol hepático total en ratones que fueron alimentados con dieta MCD.

[0026] La Fig. 13 muestra que *Veillonella* cepa C redujo los triglicéridos hepáticos en ratones que fueron alimentados con dieta MCD.

[0027] La Fig. 14 muestra la eficacia de las EV de *Veillonella parvula* cepa A y las EV de *Veillonella atypica* cepas A y B en comparación con la de anti-PD-1 o vehículo administrado por vía intraperitoneal (i.p.) en un modelo de carcinoma colorrectal en ratón en el día 11. La prueba de Welch se realiza para tratamiento frente a vehículo.

[0028] La Fig. 15 muestra la eficacia de las EV de *Veillonella parvula* cepa A y las EV de *Veillonella atypica*

cepas A y B en comparación con la de anti-PD-1 o vehículo administrado por vía intraperitoneal (i.p.) en un modelo de carcinoma colorrectal en ratón en el día 11. La prueba de Welch se realiza para tratamiento frente a anti-PD-1.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Aspectos generales

[0029] En ciertos aspectos, en el presente documento se proporcionan métodos y composiciones relacionados con el tratamiento y/o la prevención de enfermedades (por ejemplo, 10 cáncer, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad inflamatoria, enfermedad metabólica) en un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano), que comprende administrar una composición bacteriana que comprende bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) así como 15 métodos de preparación y/o identificación de tal bacteria.

Definiciones

[0030] "Adyuvante" o "terapia de adyuvante" se refiere ampliamente a un agente que afecta a una respuesta inmunológica o fisiológica en un paciente o sujeto. Por ejemplo, un 20 adyuvante podría aumentar la presencia de un antígeno a lo largo del tiempo o a un área de interés como un tumor, ayudar a absorber un antígeno que presenta el antígeno celular, activar macrófagos y linfocitos y apoyar la producción de citocinas. Al cambiar una respuesta inmunitaria, un adyuvante 25 podría permitir que una dosis más pequeña de un agente de interacción inmune aumente la efectividad o la seguridad de una dosis particular del agente de interacción inmune. Por ejemplo, un adyuvante puede evitar el agotamiento de los linfocitos T

30

[0031] "Administración" se refiere en sentido amplio 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 mediante inyección incluye administración intravenosa (IV), intramuscular (IM), intratumoral (IT) y subcutánea (SC). Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse en cualquier forma mediante cualquier vía eficaz, incluyendo, pero sin limitación a, intratumoral, oral, parenteral, enteral, intravenosa, intraperitoneal, tópica, transdérmica (por ejemplo, usando cualquier parche estándar), intradérmica, oftálmica, por vía (intra)nasal, local, no oral, tal como aerosol, inhalación, subcutánea, intramuscular, bucal, sublingual, (trans)rectal, vaginal, intraarterial e intratecal, transmucosa (por ejemplo, sublingual, lingual, (trans)bucal, (trans)uretral, vaginal (por ejemplo, por vía trans y perivaginal), intravesical, 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 o adyacente a un drenaje de ganglios linfáticos, por vía intravenosa, mediante inhalación o aerosol, o por vía subcutánea.

[0032] Tal como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" se puede referir tanto a un anticuerpo intacto como a un fragmento de unión a antígeno del mismo. Los anticuerpos intactos son glucoproteínas que incluyen al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L)

interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada incluye una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento como V_H) y una región constante de la cadena pesada. Cada cadena ligera incluye una región variable de la cadena ligera (abreviada en el presente documento como V_L) y una región constante de la cadena ligera. Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones de entramado (FR). Cada V_H y V_L está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino-terminal hasta el extremo carboxi-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras contienen un dominio de unión que interactúa 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 de cadena simple y fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno.

[0033] Las expresiones "fragmento de unión a antígeno" y "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, tal como se usan en el presente documento, se refieren a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan 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 a disulfuro, Fd, diacuerpos, anticuerpos de cadena sencilla, NANOBODIES®, CDRH3 aislado, y otros fragmentos de anticuerpos que retienen al menos una porción de la región

variable de un anticuerpo intacto. Estos fragmentos de anticuerpos pueden obtenerse usando técnicas enzimáticas y/o recombinantes convencionales y pueden seleccionarse para la unión al antígeno de la misma manera que los anticuerpos intactos.

[0034] "Cáncer" se refiere ampliamente a un crecimiento anómalo descontrolado de células propias del hospedador que lleva a la invasión de tejidos circundantes y potencialmente a tejidos distales al sitio inicial del crecimiento anómalo de células del hospedador. Las clases principales incluyen carcinomas que son cánceres del tejido epitelial (por ejemplo, piel, células escamosas); sarcomas que son cánceres del tejido conectivo (por ejemplo, hueso, cartílago, grasa, músculo, vasos sanguíneos, etc.); leucemias que son cánceres de 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 de cerebro y tejido espinal. "Cáncer(es)", "neoplasia(s)" y "tumor(es)" se usan en el presente documento de manera intercambiable. Tal como se usa en el presente documento, "cáncer" se refiere a todos los tipos de cáncer o neoplasia o tumores malignos incluyendo leucemias, carcinomas y sarcomas, ya sea nuevo o recurrente. Ejemplos específicos de cánceres son: carcinomas, sarcomas, mielomas, leucemias, linfomas y tumores de tipo mixto. Los ejemplos no limitativos de cánceres son cánceres nuevos o recurrentes del cerebro, melanoma, vejiga, mama, cuello uterino, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, pulmón de células no pequeñas, mesotelioma, ovario, próstata, sarcoma, estómago, útero y meduloblastoma.

[0035] La expresión "mutante de LPS o mutante de lipopolisacárido" se refiere ampliamente a bacterias seleccionadas que comprenden la pérdida de LPS. La pérdida de LPS se puede deber a mutaciones o alteraciones de los genes implicados en la biosíntesis de lípido A, tales como *lpxA*, *lpxC* e *lpxD*. Las bacterias que comprenden mutantes de LPS pueden ser resistentes a los aminoglucósidos y polimixinas (polimixina B y colistina).

[0036] "Aumento celular" se refiere ampliamente al influjo de células o la expansión de células en un ambiente que no está sustancialmente presente en el ambiente antes de la administración de una composición y no está presente en la propia composición. Las células que aumentan el entorno incluyen células inmunes, células del estroma, células bacterianas y fúngicas. Los entornos de interés particular son los microentornos donde residen o ubican las células cancerosas. En algunos casos, el microentorno es un microentorno tumoral o un ganglio linfático de drenaje tumoral. En otros casos, el microentorno es un sitio de tejido precanceroso o el sitio de administración local de una composición o un sitio donde la composición se acumulará después de la administración remota.

[0037] "Clado" se refiere a las UTO o a los miembros de un árbol filogenético que están aguas abajo de un nodo 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 cierto grado de similitud de secuencia. "Unidades taxonómicas operativas", "UTO" (o su plural, las "UTO") se refieren a una hoja terminal en un árbol filogenético

y se define mediante una secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, todo el genoma, o una secuencia genética específica, y todas las secuencias que comparten identidad de secuencia con su 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, se secuencian y se comparan los genomas completos de dos entidades. En otra realización, pueden compararse genéticamente regiones seleccionadas como etiquetas de secuencia multilocus (MLST), genes específicos o conjuntos de genes. En las realizaciones de 16S, las UTO que comparten una identidad de nucleótidos promedio del $\geq 97\%$ en todo el 16S o alguna región variable del 16S se consideran la misma UTO (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 UTO de genes que comparten una identidad de nucleótidos promedio del $\geq 95\%$ se consideran la misma UTO (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 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 UTO se definen con frecuencia comparando secuencias entre organismos. En general, las

secuencias con menos de una identidad de secuencia del 95 % no se consideran que formen parte de la misma UTO. Las UTO también se pueden caracterizar mediante cualquier combinación de marcadores de nucleótidos o genes, en particular, genes
5 altamente conservados (por ejemplo, genes "constitutivos") o una combinación de los mismos. Dicha caracterización emplea, por ejemplo, datos de WGS o una secuencia de genoma completa.

[0038] Una "combinación" de dos o más cepas microbianas monoclonales incluye la coexistencia física de las dos cepas
10 microbianas monoclonales, en el mismo material o producto o en productos físicamente conectados, así como la coadministración temporal o la colocalización de las cepas microbianas monoclonales.

[0039] El término "reducción" o "agotamiento" se
15 refiere a un cambio, de tal manera que la diferencia es, dependiendo de las circunstancias, al menos el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 1/100, 1/1000, 1/10,000, 1/100,000, 1/1,000,000 o indetectable tras el tratamiento cuando se compara con un estado de pretratamiento.

[0040] La expresión "consorcio ecológico" significa un
20 grupo de bacterias que intercambia metabolitos y que se corregulan positivamente entre sí, a diferencia de dos bacterias que inducen sinergia del hospedador a través de la activación de rutas complementarias del hospedador para mejorar
25 la eficacia.

[0041] El término "epítopo" se refiere a un
determinante proteico capaz de unirse específicamente a un anticuerpo. Los epítopos normalmente consisten en agrupaciones
30 de moléculas de superficie químicamente activas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar. Determinados

epítomos pueden definirse por una secuencia particular de aminoácidos a la que un anticuerpo puede unirse.

[0042] Tal como se usa en el presente documento, "bacterias diseñadas genéticamente" son cualquiera de las bacterias que se han alterado genéticamente a partir de su estado natural mediante la intervención humana y la progenie de cualquiera de estas bacterias. Las bacterias modificadas por ingeniería incluyen, por ejemplo, los productos de modificación genética dirigida, los productos de selecciones de mutagénesis aleatoria y los productos de evolución dirigida.

[0043] El término "gen" se usa ampliamente para referirse 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.

[0044] La "identidad" entre las secuencias de ácido nucleico de dos moléculas de ácido nucleico puede determinarse como un porcentaje de identidad utilizando algoritmos informáticos conocidos como el programa "FASTA", utilizando, por ejemplo, los parámetros por defecto, como en Pearson *et al.* (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 85:2444 (otros programas incluyen el paquete del programa 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, Mrtin J. Bishop, ed., Academic Press, San Diego, 1994, and 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 puede usarse para determinar la identidad. Otros programas comercialmente o públicamente disponibles incluyen el programa

"MegAlign" de DNASTar (Madison, Wis.) y el programa "Gap" del University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWG) (Madison Wis.)).

5 **[0045]** Tal como se usa en el presente documento, la
expresión "trastorno inmunitario" se refiere a cualquier
enfermedad, trastorno o síntoma de enfermedad causado por una
actividad del sistema inmunitario, incluyendo enfermedades
autoinmunitarias, enfermedades inflamatorias y alergias. Los
trastornos inmunitarios incluyen, pero sin limitación,
10 enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, lupus,
esclerodermia, anemia hemolítica, vasculitis, diabetes tipo
uno, enfermedad de Grave, artritis reumatoide, esclerosis
múltiple, síndrome de Goodpasture, anemia perniciosa y/o
miopatía), enfermedades inflamatorias (por ejemplo, acné
15 vulgar, asma, celiacía, prostatitis crónica,
glomerulonefritis, enfermedad inflamatoria del intestino,
enfermedad inflamatoria pélvica, lesión por reperfusión,
artritis reumatoide, sarcoidosis, rechazo al trasplante,
vasculitis y/o cistitis intersticial), y/o una alergia (por
20 ejemplo, alergia alimenticia, alergia a los fármacos y/o
alergias ambientales).

[0046] El término "aumento" se refiere a un cambio, de
tal manera que la diferencia es, en función de las
circunstancias, al menos el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60
25 %, 70 %, 80 %, 90 %, 2 veces, 4 veces, 10 veces, 100 veces,
10³ veces, 10⁴ veces, 10⁵ veces, 10⁶ veces y/o 10⁷ veces
mayor después del tratamiento cuando se compara con un estado
de pretratamiento. Las propiedades que pueden aumentar incluyen
células inmunitarias, células bacterianas, células estromales,
30

células supresoras derivadas del mieloide, fibroblastos, metabolitos y citocinas.

[0047] El "espaciador interno transcrito" o "ITS" es una parte de un ARN no funcional localizado entre los ARN ribosomales estructurales (ARNr) en un transcrito precursor común a menudo usado para la identificación de especies eucariotas, en particular, hongos. El ARNr de hongos que forma el núcleo del ribosoma se transcribe como un gen 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 intercistrónicos entre las regiones 18S y 5.8S y 5.8S y 28S se eliminan mediante corte y empalme y contienen una variación significativa entre especies para propósitos de códigos de barras como se describió 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 ADNr de 18S se usa tradicionalmente para la reconstrucción filogenética, sin embargo, el ITS puede cumplir esta función, ya que generalmente está altamente conservado pero contiene regiones hipervariables que albergan suficiente diversidad de nucleótidos para diferenciar las especies de la mayoría de los hongos.

[0048] El término "aislado" o "enriquecido" abarca un microbio, bacteria u otra entidad o sustancia que (1) se ha separado de al menos alguno de los componentes con los que estaba asociado cuando inicialmente se produjo (en la naturaleza o en unas condiciones experimentales) y/o (2) se ha producido, preparado, purificado y/o fabricado por la mano del hombre. Los microbios aislados pueden separarse de al menos aproximadamente el 10%, aproximadamente el 20%,

aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%,
aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%,
aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%,
aproximadamente el 90%, o más de los otros componentes con lo
5 que se asociaron inicialmente. En algunas realizaciones, los
microbios aislados son más de aproximadamente el 80%,
aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%,
aproximadamente el 91%, aproximadamente el 92%,
aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%,
10 aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%,
aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98%,
aproximadamente el 99%, o más de aproximadamente el 99% puro.
Tal como se usa en el presente documento, una sustancia es
"pura" si está sustancialmente libre de otros componentes. Los
15 términos "purificar", "purificación" y "purificado" se
refieren a un microbio u otro material que se ha separado de
al menos alguno de los componentes con los que estaba asociado
bien cuando se produjo o se generó inicialmente (por ejemplo,
bien en la naturaleza o en unas condiciones experimentales) o
20 durante cualquier tiempo después de su producción inicial. Un
microbio o una población microbiana se puede considerar
purificada si está aislada en o después de la producción, tal
como de un material o ambiente que contiene el microbio o la
población microbiana, y un microbio o población microbiana
25 purificada puede contener otros materiales hasta
aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 20 %,
aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 40 %,
aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %,
aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %,
30 aproximadamente el 90 %, o más de aproximadamente el 90 % y aún

se considera "aislado". En algunas realizaciones, los microbios purificados o una población microbiana son más de aproximadamente el 80%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%,
5 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% puros. En el caso de las composiciones
10 microbianas proporcionadas en el presente documento, el uno o más tipos microbianos presentes en la composición pueden purificarse independientemente de uno o más de otros microbios producidos y/o presentes en el material o ambiente que contiene el tipo microbiano. Las composiciones y los componentes
15 microbianos de las mismas se purifican de productos residuales del hábitat.

[0049] "Metabolito" tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquiera y a todos los compuestos moleculares, composiciones, moléculas, iones, cofactores,
20 catalizadores o nutrientes usados como sustratos en cualquier reacción metabólica celular o microbiana o que resultan como compuestos del producto, composiciones, moléculas, iones, cofactores, catalizadores o nutrientes de cualquier reacción metabólica celular o microbiana.

[0050] "Microbio" se refiere a cualquier organismo natural o diseñado genéticamente caracterizado como una bacteria, hongo, alga microscópica, protozoo y las etapas de desarrollo o las etapas del ciclo vital (por ejemplo, vegetativa, espora (incluyendo la esporulación, latencia y
30 germinación), latente, biopelícula) asociado con el organismo.

Ejemplos de microbios intestinales incluyen: *Actinomyces graevenitzi*, *Actinomyces odontolyticus*, *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides caccae*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides putredinis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*,
5 *Bacteroides vulgatus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bilophila wadsworthia*, *Lactococcus lactis*, *Butyrivibrio*, *Campylobacter gracilis*, *Clostridia cluster III*, *Clostridia cluster IV*, *Clostridia cluster IX* (grupo *Acidaminococcaceae*), *Clostridia cluster XI*, *Clostridia cluster XIII* (grupo *Peptostreptococcus*), *Clostridia cluster XIV*, *Clostridia cluster XV*, *Collinsella aerofaciens*, *Coprococcus*, *Corynebacterium sunsvallense*, *Desulfomonas pigra*, *Dorea formicigenerans*, *Dorea longicatena*, *Escherichia coli*, *Eubacterium hadrum*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacteria prausnitzii*, *Gemella*, *Lactococcus*, *Lachnospira*, *Mollicutes cluster XVI*, *Mollicutes cluster XVIII*, *Prevotella*, *Rothia mucilaginosa*, *Ruminococcus callidus*, *Ruminococcus gnavus*,
10 *Ruminococcus torques*, y *Streptococcus*.

[0051] "Microbioma" se refiere ampliamente a los
20 microbios que residen sobre o dentro del sitio corporal de un sujeto o paciente. Los microbios en un microbioma pueden incluir bacterias, virus, microorganismos eucariotas y/o virus. Los microbios individuales en un microbioma pueden ser metabólicamente activos, latentes, latentes, o existir como
25 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 sano o un microbioma de estado de enfermedad. El microbioma puede ser nativo del sujeto o paciente, o los
30 componentes del microbioma pueden ser modulados, introducidos

o agotados debido a cambios en el estado de salud (por ejemplo, precanceroso o canceroso) o tratamiento condiciones (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.

[0052] Un "perfil de microbioma" o una "característica del 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.

[0053] "Modificado" en referencia a unas bacterias se refiere ampliamente a bacterias que se han sometido a un cambio desde su forma de tipo silvestre. Los ejemplos de modificaciones bacterianas incluyen modificación genética, expresión génica, modificación de fenotipo, formulación, modificación química, y dosis o concentración. Los ejemplos de propiedades mejoradas se describen a lo largo de la presente memoria descriptiva e incluyen, por ejemplo, atenuación, auxotrofia, migración dirigida o antigenicidad. La modificación del fenotipo podría incluir, a modo de ejemplo, el crecimiento de bacterias en medios que modifican el fenotipo de una bacteria que aumentan o disminuyen la virulencia.

[0054] Tal como se usa en el presente documento, un gen se "sobreexpresa" en una bacteria si se expresa a un mayor nivel en una bacteria diseñada genéticamente bajo al menos

algunas condiciones que si se expresa por una bacteria de tipo silvestre de la misma especie en las mismas condiciones. De manera similar, un gen se "infraexpresa" en una bacteria si se expresa a un menor nivel en una bacteria diseñada genéticamente bajo al menos algunas condiciones que si se expresa por una bacteria de tipo silvestre de la misma especie en las mismas condiciones.

[0055] Los términos "polinucleótido" y "ácido nucleico" se usan de manera intercambiable. Se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, o bien desoxirribonucleótidos o bien ribonucleótidos, o análogos de los mismos. Los polinucleótidos pueden tener cualquier estructura tridimensional, y pueden realizar cualquier función. Lo siguiente son ejemplos no limitantes de polinucleótidos: regiones codificantes o no codificantes de un gen o fragmento génico, loci (locus) definidos a partir del análisis de unión, exones, intrones, ARN mensajero (ARNm) ARN de transferencia, ARN ribosómico, ribozimas, ADNc, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN de cualquier secuencia aislada, ARN de cualquier secuencia aislada, sondas de ácido nucleico y cebadores. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótidos. Si está presente, pueden alterarse modificaciones a la estructura de nucleótidos antes o después del ensamblaje del polímero. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente, tal como mediante conjugación con un componente de marcado. En todas las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en el presente documento, los nucleótidos U son nucleótidos T intercambiables.

[0056] "Unidades taxonómicas operativas" y "UTO(s)" se refieren a la hoja terminal en un árbol filogenético y se define por una secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, todo el genoma, 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, se secuencian y se comparan los genomas completos de dos entidades. En otra realización, pueden compararse genéticamente regiones seleccionadas como etiquetas de secuencia multilocus (MLST), genes específicos o conjuntos de genes. Para 16S, las UTO que comparten $\geq 97\%$ de identidad de nucleótidos promedio en todo el 16S o alguna región variable del 16S se consideran la misma UTO. 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, que no sean 16S, o conjuntos de genes UTO que comparten $\geq 95\%$ de identidad de nucleótidos promedio se consideran la misma UTO. 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 UTO se definen

con frecuencia comparando secuencias entre organismos. En general, las secuencias con menos de una identidad de secuencia del 95 % no se consideran que formen parte de la misma UTO. Las UTO también se pueden caracterizar mediante 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 Operativas (UTO) con asignaciones taxonómicas hechas a, por ejemplo, géneros, especies y clados filogenéticos se proporcionan en el presente documento.

[0057] Tal como se usa en el presente documento, una sustancia es "pura" si está sustancialmente libre de otros componentes. Los términos "purificar", "purificación" y "purificado" se refieren a una EV u otro material que se ha separado de al menos alguno de los componentes con los que estaba asociado bien cuando se produjo o se generó inicialmente (por ejemplo, en la naturaleza o en unas condiciones experimentales) o durante cualquier momento después de su producción inicial. Se puede considerar una EV purificada si se aísla en o después de la producción, tal como de uno o más componentes bacterianos, y un microbio o población microbiana purificada puede contener otros materiales hasta aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 90 % o más de aproximadamente el 90 % y aún se considera "purificada". En algunas realizaciones, las EV purificadas son más de aproximadamente el 80 %, 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 %.

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. Las composiciones de EV y los componentes microbianos de las mismas, por ejemplo, se purifican a partir de productos residuales del hábitat.

[0058] Tal como se usa en el presente documento, la expresión "composición de EV purificada" o "composición de EV" se refiere a una preparación que incluye las EV que se han separado de al menos una sustancia asociada hallada en un material de origen (por ejemplo, separada de al menos un otro componente bacteriano) o cualquier material asociado con las EV en cualquier proceso usado para producir la preparación. También se refiere a una composición que se ha enriquecido o concentrado significativamente. En algunas realizaciones, las EV se concentran en 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 100 veces, 1000 veces, 10,000 veces o más de 10,000 veces.

[0059] Tal como se usa en el presente documento "unión específica" se refiere a la capacidad de un anticuerpo para unirse a un antígeno predeterminado o a la capacidad de un polipéptido para unirse a su miembro de unión predeterminado. Normalmente, un anticuerpo o polipéptido se une específicamente a su componente de unión al antígeno o predeterminado con una afinidad correspondiente a un K_D de aproximadamente 10^{-7} M o menos, y se une al compañero de antígeno/unión predeterminado con una afinidad (como se expresa por K_D) que es al menos 10 veces menos, al menos 100 veces menos o al menos 1000 veces menos que su afinidad por unirse a un antígeno/compañero de

unión no específico y no relacionado (por ejemplo, BSA, caseína). Alternativamente, la unión específica se aplica más ampliamente a un sistema de dos componentes en donde un componente es una proteína, lípido, hidrato de carbono o combinación de los mismos y se involucra con el segundo componente que es una proteína, lípido, hidrato de carbono o combinación de los mismos de una manera específica.

[0060] Los términos "sujeto" o "paciente" se refieren a cualquier animal. Un sujeto o un paciente descrito como "que lo necesite" se refiere a uno que necesite un 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). Por ejemplo, el sujeto puede ser un mamífero no humano, que incluye pero sin limitación, un perro, un gato, una vaca, un caballo, un cerdo, un burro, una cabra, un camello, un ratón, una rata, una cobaya, una oveja, una llama, un mono, un gorila o un chimpancé. El sujeto o paciente puede estar sano, o puede padecer un trastorno inmunitario en cualquier etapa de desarrollo.

[0061] "Cepa" se refiere a un miembro de una especie bacteriana con una característica genética, de tal manera que se pueda diferenciar de los miembros estrechamente relacionados de la misma especie bacteriana. La característica genética puede ser la ausencia de todo o parte de al menos un gen, la ausencia de todo o parte de al menos una región reguladora (por ejemplo, un promotor, un terminador, un riboconmutador, un sitio de unión al ribosoma), la ausencia ("curing" o eliminación) de al menos un plásmido natural, la presencia de

al menos un gen recombinante, la presencia de al menos un gen mutado, la presencia de al menos un gen extraño (un gen que proviene de otra especie), la presencia de al menos una región reguladora mutada (por ejemplo, un promotor, un terminador, un riboconmutador, un sitio de unión a ribosoma), la presencia de al menos un plásmido no natural, la presencia de al menos un casete de resistencia a antibióticos o una combinación de los mismos. Las firmas genéticas entre diferentes cepas pueden identificarse mediante amplificación por PCR opcionalmente seguida de secuenciación de ADN de la región o regiones genómicas de interés del genoma completo. En el caso en que una cepa (en comparación con otra de la misma especie) ha ganado o perdido resistencia a los antibióticos o ha ganado o perdido una capacidad biosintética (como una cepa auxotrófica), las cepas pueden diferenciarse mediante selección o contraselección usando un antibiótico o nutriente/metabolito, respectivamente.

[0062] Tal como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" de una enfermedad en un sujeto o "tratamiento" de un sujeto que tiene o que 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 manera que al menos un síntoma de la enfermedad se reduce o se evita que empeore. Por lo 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 eficacia de o reducir la resistencia a agentes terapéuticos alternativos, o una combinación de los mismos.

Bacterias

[0063] En ciertos aspectos, en el presente documento se proporcionan métodos de uso de una composición bacteriana que comprende bacterias de *Veillonella* y/o un producto de tales bacterias (por ejemplo, vesículas extracelulares (EV) y/o biomasas farmacéuticamente activas (PhAB)). En algunas realizaciones, las bacterias de *Veillonella* son de las siguientes especies: *Veillonella tobetsuensis* o *Veillonella parvula*. En algunas realizaciones, las bacterias de *Veillonella* son de las siguientes especies: *Veillonella atypica* o *Veillonella dispar*. En algunas realizaciones, las bacterias son una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1.

Tabla 1: Cepas bacterianas

Cepa	Nombre del organismo	Secuencia 16S	SEQ ID NO
5		>S11-19-357F	SEQ ID NO 1
10	A	AGCAACGCCGCGTGAGTGATGACGGCCTTCGGGT TGTAAGCTCTGTTAATCGGGACGAAAGGCCTTC TTGCGAATAGTTAGAAGGATTGACGGTACCGGAA TAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAAT TATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGATCGGTC AGTCTGTCTTAAAAGTTCGGGGCTTAACCCCGTG AGGGGATGGAACTGCTGATCTAGAGTATCGGAG AGGAAAGTGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATG CGTAGATATTAGGAAGAACACCAAGTGCGGAAGGC GACTTTCTGGACGAAAAGTACGCTGAGGCGCGA AAGCCAGGGGAGCGAACGGGATTAGATACCCCGG TAGTCCTGGCCGTAAACGATGGGTACTAGGTGTA GGAGGTATCGACCCCTTCTGTGCCGGAGTTAACG CAATAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAA GGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCA CAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGACGCAA CGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATTGATGG ACAGAACTAGAGATAGTTCCTCTTCTTCGGAAGC CAGAAAACAGGTGGTGCACGGTTGTCTCAGCTC GTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA GCGCAACCCCTATCTTATGTTGCCAGCACTTCGG GTGGGAACTCAT	
15			
20			
25	B	>S14-201 Contig GAGTGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTGT TAATCGGGACGAAAGGCCTTCTTGCGAATAGTGA GAAGGATTGACGGTACCGGAATAGAAAGCCACGG CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG GTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAA GCGCGCGCAGGCGGATAGGTCACTGTCTTAAA AGTTCGGGGCTTAACCCCGTGATGGGATGGAAAC TGCCAATCTAGAGTATCGGAGAGGAAAGTGGAAT TCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGG AAGAACACCAAGTGCGGAAGGCGACTTTCTGGACG AAAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGGAGC GAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCCTGGCCGT AAACGATGGGTACTAGGTGTAGGAGGTATCGACC CCTTCTGTGCCGGAGTTAACGCAATAAGTACCC	SEQ ID NO 2
30			

5		GCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA AGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGT ATGTGGTTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTT ACCAGGTCTTGACATTGATGGACAGAACCAGAGA TGGTTCCTCTTCTTCGGAAGCCAGAAAACAGGTG GTGCACGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATG TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTAT CTTATGTTGCCAGCACTTTGGGTGGGGACTCATG AGAGACTGCCGCAGACAATGCGGAGGAAGGCGGG GATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTG GGCTACACACGTACTACAATGGGAGTTAATAGAC GGAAGCGAGATCGCGAGATGGAGCAAACCCGAGA AACACTCTCTCAGTTCGGATCGTAGGCTGCAACT CGCCTACGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCA GGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC TTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAAAGTCGG AAGTGCCCAAAGCCGGTGGGGTAACCTTC	
10			
15		>S14-205 Contig GAGTGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTGT TAATCGGGACGAAAGGCCTTCTTGCGAATAGTGA GAAGGATTGACGGTACCGGAATAGAAAGCCACGG CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG GTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAA GCGCGCGCAGGCGGATAGGTCACTGTCTTAAA AGTTCGGGGCTTAACCCCGTGATGGGATGGAAAC TGCCAATCTAGAGTATCGGAGAGGAAAGTGGAAT TCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGG AAGAACACCAAGTGCGGAAGGCGACTTTCTGGACG AAAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCCAGGGGAGC GAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCCTGGCCGT AAACGATGGGTACTAGGTGTAGGAGGTATCGACC CCTTCTGTGCCGGAGTTAACGCAATAAGTACCC GCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA AGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGT ATGTGGTTTAATTCGACGCAACGCGAAGAACCTT ACCAGGTCTTGACATTGATGGACAGAACCAGAGA TGGTTCCTCTTCTTCGGAAGCCAGAAAACAGGTG GTGCACGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATG TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTAT CTTATGTTGCCAGCACTTTGGGTGGGGACTCATG AGAGACTGCCGCAGACAATGCGGAGGAAGGCGGG GATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTG GGCTACACACGTACTACAATGGGAGTTAATAGAC GGAAGCGAGATCGCGAGATGGAGCAAACCCGAGA	SEQ ID NO. 3
20	C	<i>Veillonella parvula</i>	
25			
30			

5		AACACTCTCTCAGTTTCGGATCGTAGGCTGCAACT CGCCTACGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCA GGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC TTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAAAGTCGG AAGTGCCCAAAGCCGGTG	
10			

15 **[0064]** En algunas realizaciones, las bacterias son 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, secuencia genómica, 16S o secuencia de nucleótidos CRISPR) de las cepas bacterianas enumeradas en la Tabla 1.

20 **[0065]** El solicitante declara que el ATCC es un depositario que permite la permanencia del depósito y fácil acceso para el público si se otorga una patente. Todas las restricciones sobre la disponibilidad al público del material así depositado se eliminarán irrevocablemente al otorgar una

25

30

patente. El material estará disponible durante la tramitación de la solicitud de patente a uno que el Comisionado determine que tiene derecho a él según 37 CFR 1.14 y 35 U.S.C. 122. El material depositado se mantendrá con todo el cuidado necesario para mantenerlo viable e incontaminado durante un período de al menos cinco años después de la solicitud más reciente para el suministro de una muestra del plásmido depositado y, en cualquier caso, durante un período de al menos treinta (30) años después de la fecha de depósito o durante la vigencia de la patente, el período que sea más largo. El solicitante reconoce su deber de reemplazar el depósito si el depositario no puede proporcionar una muestra cuando se lo solicite debido a la condición del depósito.

[0066] En algunas realizaciones, las bacterias descritas en el presente documento se modifican para mejorar la colonización y/o el injerto en el tracto gastrointestinal de los mamíferos (por ejemplo, metabolismo modificado, tal como degradación de mucina mejorada, perfil de competición mejorado, motilidad aumentada, adhesión aumentada a células epiteliales intestinales, quimiotaxis modificada). En algunas realizaciones, la bacteria descrita en el presente documento se modifica para mejorar su efecto inmunomodulador y/o terapéutico (por ejemplo, bien solo o en combinación con otro agente terapéutico). En algunas realizaciones, las bacterias descritas en el presente documento se modifican para mejorar la activación inmunitaria (por ejemplo, a través de la producción modificada de polisacáridos, pili, fimbrias, adhesinas, vesículas). En algunas realizaciones, las bacterias descritas en el presente documento se modifican para mejorar la fabricación bacteriana (por ejemplo, mayor tolerancia al

oxígeno, mejor tolerancia a la congelación y descongelación, tiempos de generación más cortos).

[0067] Las bacterias de *Veillonella* (por ejemplo *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) se pueden cultivar de acuerdo con los métodos conocidos en la materia. Por ejemplo, las bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1) se puede cultivar en medio ATCC 2722, Medio ATCC 1490 u otro medio usando los métodos desvelados, por ejemplo, en Caballero *et al.*, 2017. "Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium*" *Cell Host & Microbe* 21:592-602, que se incorpora mediante el presente documento a modo de referencia en su totalidad.

Producción de las EV

[0068] En ciertos aspectos, las EV de las bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) descritas en el presente documento se pueden preparar usando cualquier método conocido en la materia.

[0069] En algunas realizaciones, las EV de bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) se preparan sin que haya ninguna etapa de purificación de EV. Por ejemplo, en algunas realizaciones las bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) que comprenden las EV descritas en el presente documento, se destruyen usando un método que deja intactas las EV de las bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) y los componentes bacterianos resultantes, incluyendo las EV, se usan en los métodos y composiciones descritos en el presente

documento. En algunas realizaciones, las bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) se destruyen usando un antibiótico (por ejemplo, usando un antibiótico descrito en el presente documento). En algunas realizaciones, las bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) se destruyen usando irradiación UV.

[0070] En algunas realizaciones, las EV descritas en el presente documento se purifican de uno o más componentes bacterianos diferentes. Los métodos para purificar las EV de bacterias se conocen en la técnica. En algunas realizaciones, las EV se preparan a partir de cultivos bacterianos usando 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 por el presente documento a modo de referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, las bacterias se cultivan a alta densidad óptica y después se centrifugan para sedimentar las bacterias (por ejemplo, a 10,000 x g durante 30 min a 4 °C, a 15,500 x g durante 15 min a 4 °C). En algunas realizaciones, los sobrenadantes del cultivo se pasan después a través de filtros para excluir las células bacterianas intactas (por ejemplo, un filtro de 0.22 µm). En algunas realizaciones, los sobrenadantes se someten después a filtración de flujo tangencial, durante lo cual se concentra el sobrenadante, se eliminan las especies más pequeñas de 100 kDa, y los medios se intercambian parcialmente con PBS. En algunas realizaciones, los sobrenadantes filtrados se centrifugan para sedimentar las EV bacterianas, por ejemplo, a 100,000-150,000 x g durante 1-3 horas a 4 °C, a 200,000 x

durante 1-3 horas a 4 °C). En algunas realizaciones, las EV se purifican adicionalmente resuspendiendo los sedimentos de EV resultantes (por ejemplo, en PBS) y aplicando las EV resuspendidas a un gradiente de Optiprep (iodixanol) o a un gradiente (por ejemplo, un gradiente discontinuo al 30-60 %, un gradiente discontinuo del 0-45 %), seguido por centrifugación (por ejemplo, a 200,000 x g durante 4-20 horas a 4 °C). Las bandas de EV se pueden recolectar, diluir con PBS y centrifugar para sedimentar las EV (por ejemplo, a 150,000 x g durante 3 horas a 4 °C, a 200,000 x g durante 1 hora a 4 °C). Las EV purificadas se pueden almacenar, por ejemplo, a -80 °C o -20 °C hasta su uso. En algunas realizaciones, las EV se purifican adicionalmente mediante tratamiento con desoxirribonucleasa y/o proteinasa K.

[0071] Por ejemplo, en algunas realizaciones, los cultivos de bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) desveladas en el presente documento, se pueden centrifugar a 11,000 x g durante 20-40 min a 4 °C para sedimentar las bacterias. Los sobrenadantes del 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 después usando métodos que pueden incluir, pero sin limitación, precipitación con sulfato de amonio, ultracentrifugación o filtración. Por ejemplo, para la precipitación con sulfato de amonio, se puede añadir lentamente sulfato de amonio 1.5-3 M al sobrenadante filtrado, mientras se agita a 4 °C. Las precipitaciones se pueden incubar a 4 °C durante 8-48 horas y después centrifugarse a 11,000 x g durante 20-40 min a 4 °C. Los sedimentos resultantes contienen las EV

de bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) y otros restos. Al usar la 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 las EV de bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) y otros restos tales como complejos proteicos grandes. En algunas realizaciones, al usar una técnica de filtración, tal como mediante el uso de un filtro Amicon Ultra spin o mediante filtración de flujo tangencial, los sobrenadantes se pueden filtrar para que conserven especies de peso molecular > 50 o 100 kDa.

[0072] Como alternativa, las EV se pueden obtener de cultivos de bacterias inmunomoduladoras de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) de manera continua durante el crecimiento, o en puntos temporales seleccionados durante el crecimiento, por ejemplo, conectando un biorreactor con un sistema de flujo tangencial alternante (ATF) (por ejemplo, el ATF XCell de Repligen). El sistema ATF conserva las células intactas (>0.22 um) en el biorreactor, y permite que los componentes de menor tamaño (por ejemplo, EV, proteínas libres) pasen a través de un filtro para su recolección. Por ejemplo, se puede configurar el sistema para que el filtrado de <0.22 um pase luego a través de un segundo filtro de 100 kDa, permitiendo que especies tales como las EV entre 0.22 um y 100 kDa se recolecten, y que especies más pequeñas de 100 kDa se bombeen de vuelta al biorreactor. Como alternativa, se puede configurar el sistema para que permita que el medio en el biorreactor se reponga y/o se modifique

durante el crecimiento del cultivo. Las EV recolectadas mediante este método se pueden purificar adicionalmente y/o concentrar mediante ultracentrifugación o filtración tal como se describe anteriormente para los sobrenadantes filtrados.

5 **[0073]** Las EV obtenidas mediante los métodos proporcionados en el presente documento se pueden purificar adicionalmente mediante cromatografía en columna basada en tamaño, mediante cromatografía por afinidad, mediante cromatografía de intercambio iónico, y mediante
10 ultracentrifugación por gradiente, usando métodos que pueden incluir, pero que no se limitan al uso de un gradiente de sacarosa o un gradiente de Optiprep. En resumen, al usar un método de gradiente de sacarosa, si se usaran precipitación o ultracentrifugación de sulfato de amonio para concentrar los
15 sobrenadantes filtrados, se resuspenden los sedimentos en el 60% de sacarosa, Tris 30 mM, pH 8.0. Si se usó filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, el concentrado se intercambia en tampón al 60% de sacarosa, Tris 30 mM, pH 8.0, usando una columna Amicon Ultra. Las muestras se aplican a un
20 gradiente de sacarosa discontinuo al 35-60 % y se centrifugan a 200,000 x g durante 3-24 horas a 4 °C. Brevemente, al usar un método de gradiente Optiprep, si la precipitación con sulfato de amonio o la ultracentrifugación se usaron para concentrar los sobrenadantes filtrados, los sedimentos se
25 resuspenden en PBS y se añaden 3 volúmenes de Optiprep al 60 % a la muestra. En algunas realizaciones, si se usara filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, se diluye el concentrado usando Optiprep al 60% a una concentración final de Optiprep al 35%. Las muestras se aplican a un gradiente
30

Optiprep discontinuo al 0-45 % y se centrifugan a 200,000 x g durante 3-24 horas a 4 °C, por ejemplo, 4-24 horas a 4 °C.

[0074] En algunas realizaciones, para confirmar la esterilidad e aislamiento de las preparaciones de EV, se diluyen en serie las EV en un medio de agar usado para el cultivo de rutina de las bacterias que se están sometiendo a prueba, y se incuban usando condiciones de rutina. Se hacen pasar preparaciones no estériles a través de un filtro de 0.22 um para excluir células intactas. Para aumentar adicionalmente la pureza, las EV aisladas pueden tratarse con DNasa o proteinasa K.

[0075] En algunas realizaciones, para la preparación de las EV usadas para las inyecciones in vivo, se procesan las EV purificadas tal como se describe anteriormente (G. Norheim, et al., PLoS ONE. 10(9): e0134353 (2015)). Brevemente, después de la centrifugación de gradiente de sacarosa, las bandas que contienen las EV se resuspenden a una concentración final de 50 µg/ml en una solución que contiene sacarosa al 3 % u otra solución adecuada para la inyección in vivo conocida para un experto en la materia. Esta solución también puede contener adyuvante, por ejemplo, hidróxido de aluminio a una concentración del 0-0.5 % (p/v). En algunas realizaciones, para la preparación de las EV usadas para las inyecciones in vivo, las EV en PBS se filtran de forma estéril a < 0.22 um.

[0076] En ciertas realizaciones, para hacer muestras compatibles con ensayos adicionales (por ejemplo, para retirar la sacarosa antes de la obtención de imágenes con MET o en ensayos in vitro), a las muestras se les intercambia el tampón a PBS o Tris 30 mM, pH 8.0 usando la filtración (por ejemplo,

columnas Amicon Ultra), diálisis, o ultracentrifugación (200,000 x g ≥ 3 horas, 4 °C) y resuspensión.

[0077] En algunas realizaciones, la esterilidad de las preparaciones de EV se puede confirmar poniendo en placas una porción de las EV en medio de agar usado para el cultivo convencional de las bacterias usadas en la generación de las EV e incubación usando condiciones convencionales.

[0078] En algunas realizaciones, las EV seleccionadas se aíslan y se enriquecen mediante cromatografía y unión de restos de superficie en las EV. En otras realizaciones, las EV seleccionadas se aíslan y/o se enriquecen mediante clasificación de células fluorescentes por métodos usando reactivos de afinidad, colorantes químicos, proteínas recombinantes u otros métodos conocidos para un experto en la materia.

Composiciones bacterianas/farmacéuticas

[0079] En ciertos aspectos, en el presente documento se proporcionan composiciones bacterianas que comprenden bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) y/o un producto de tales bacterias (por ejemplo, vesículas extracelulares (EV) y/o biomasas farmacéuticamente activas (PhAB)). En algunas realizaciones, las bacterias son una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, las bacterias son 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 de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la formulación bacteriana comprende una bacteria y/o una combinación de bacterias descrita en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una composición farmacéutica).

[0080] En determinadas realizaciones, al menos el 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o el 99 % de las bacterias en la composición bacteriana, son bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1). En ciertas realizaciones, sustancialmente todas las bacterias en la composición bacteriana son bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1). En ciertas realizaciones, la composición bacteriana comprende al menos 1×10^3 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^4 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 2×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 3×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 4×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 6×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 7×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 8×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 9×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 2×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 3×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 4×10^7 unidades formadoras de

colonias (UFC), 5×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 6×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 7×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 8×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 9×10^7 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 2×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 3×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 4×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 6×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 7×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 8×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 9×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^9 unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^{11} unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^{11} unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^{12} unidades formadoras de colonias (UFC), 5×10^{12} unidades formadoras de colonias (UFC), 1×10^{13} unidades formadoras de colonias (UFC) de bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1).

[0081] En algunas realizaciones, al menos el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o el 99 % de las bacterias en la composición se seleccionan de entre las especies bacterianas descritas en el presente documento. El 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o el 99 % de las bacterias en la composición se seleccionan de entre las cepas bacterianas descritas en el presente documento.

[0082] En algunas realizaciones, las composiciones descritas en el presente documento pueden incluir solo una

especie de bacterias descrita en el presente documento o puede incluir dos o más especies de bacterias descritas en el presente documento. Por ejemplo, 1, 2 o 3 de las especies descritas en el presente documento, o cualquier combinación, se puede incluir en las composiciones proporcionadas en el presente documento.

[0083] En algunas realizaciones, la composición bacteriana comprende una bacteria muerta, una bacteria viva y/o una bacteria atenuada. Las bacterias se pueden destruir por calor mediante esterilización por pasteurización, tratamiento con alta temperatura, cocción por pulverización y/o secado por pulverización (los tratamientos térmicos se pueden realizar a 50 °C, 65 °C, 85 °C o una variedad de otras temperaturas y/o una cantidad variada de tiempo). Las bacterias también se pueden destruir o inactivar usando la radiación γ (radiación gamma), exposición a la luz UV, inactivación con formalina y/o métodos de congelación, o una combinación de los mismos. Por ejemplo, las bacterias se pueden exponer a 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 o 50 kGy de radiación antes de la administración. En algunas realizaciones, las bacterias (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*) se destruyen usando irradiación gamma. En algunas realizaciones, las bacterias se destruyen o se inactivan usando radiación con electrones (por ejemplo, radiación beta) o radiación con rayos x.

[0084] Las bacterias se pueden cultivar en diversas fases de crecimiento y se puede probar la eficacia en diferentes diluciones y en diferentes puntos durante la fase de crecimiento. Por ejemplo, se puede probar la eficacia de las bacterias tras la administración en fase estacionaria

(incluyendo fase estacionaria temprana o tardía) o en diversos puntos temporales durante la fase exponencial. Además de la inactivación por diversos métodos, se puede probar la eficacia de las bacterias usando diferentes proporciones de células vivas frente inactivadas, o diferentes proporciones de células a diversas fases de crecimiento.

[0085] En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden EV de *Veillonella* (por ejemplo, EV de *Veillonella tobetsuensis*, EV de *Veillonella parvula*) y/o bacterias de *Veillonella* (por ejemplo, *Veillonella tobetsuensis*, *Veillonella parvula*). proporcionadas en el presente documento (por ejemplo, una composición de EV) tal como las desveladas en la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. N.º 62/578.559, incorporada por el presente documento a modo de referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, la composición de EV comprende una EV y/o una combinación de las EV descritas en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0086] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden las EV de *Veillonella* sustancialmente o completamente libres de bacterias. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden tanto las EV de *Veillonella* como bacterias *Veillonella* completas (por ejemplo, bacterias vivas, bacterias muertas, bacterias atenuadas). En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden bacterias de *Veillonella* que están sustancialmente o completamente libres de las EV.

[0087] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende al menos 1 bacteria de *Veillonella* para

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} partículas de
 EV de *Veillonella*.

[0088] En algunas realizaciones, la composición
 farmacéutica comprende aproximadamente 1 bacteria de
Veillonella para 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} partículas EV de *Veillonella*.

[0089] En ciertas realizaciones la composición
 farmacéutica comprende una cierta proporción de partículas de
 bacterias de *Veillonella* frente a partículas de EV de
Veillonella. El número de partículas de bacterias de
Veillonella se puede basar en el número real de partículas o
 (si las bacterias están vivas), el número de UFC. El número de
 partículas se puede estabilizar mediante la combinación de un
 número establecido de EV de *Veillonella* purificadas con un

número establecido de bacterias de *Veillonella* purificadas, modificando las condiciones de crecimiento bajo las cuales se cultivan las bacterias o modificando las propias bacterias de *Veillonella* para producir más o menos EV de *Veillonella*.

5 **[0090]** En algunas realizaciones, para cuantificar los números de las EV de *Veillonella* y/o las bacterias de *Veillonella* presentes en una muestra bacteriana, se puede usar la microscopía electrónica (por ejemplo, ME de secciones ultradelgadas congeladas) para visualizar las vesículas y las
10 bacterias y contar sus números relativos. Alternativamente, pueden usarse las combinaciones del análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA), el recuento de Coulter y la dispersión dinámica de luz (DLS) o una combinación de estas técnicas. NTA y el contador Coulter cuentan partículas y muestran sus
15 tamaños. DLS proporciona la distribución del tamaño de las partículas, pero no la distribución. Las bacterias frecuentemente tienen diámetros de 1-2 μm . El rango completo es de 0.2-20 μm . Los resultados combinados del recuento de Coulter y NTA pueden revelar el número de bacterias en una
20 muestra dada. El recuento de Coulter revela el número de partículas con diámetros de 0.7-10 μm . NTA revela el número de partículas con diámetros de 50-1400 nm. Para la mayoría de las muestras bacterianas, el contador Coulter solo puede revelar la cantidad de bacterias en una muestra. Las EV tienen 20-250
25 nm de diámetro. NTA nos permitirá contar el número de partículas que tienen un diámetro de 50-250 nm. DLS revela la distribución de partículas de diferentes diámetros dentro de un rango aproximado de 1 nm - 3 μm .

30 **[0091]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende no más de 1 bacteria de *Veillonella* para

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} partículas de
 EV de *Veillonella*.

[0092] En algunas realizaciones, la composición
 farmacéutica comprende al menos 1 partícula de EV de
Veillonella para 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,
 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,
 10 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 ,
 15 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} ,
 20 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 de *Veillonella*.

[0093] En algunas realizaciones, la composición
 farmacéutica comprende aproximadamente 1 partícula de EV de
 25 *Veillonella* para 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,
 30 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 de *Veillonella*. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende no más de 1 partícula de EV de *Veillonella* para 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} bacterias de *Veillonella*.

[0094] 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%, 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 EV de *Veillonella*.

[0095] 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%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%,
77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%,
5 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de las
partículas en la composición farmacéutica son bacterias de
Veillonella.

[0096] En algunas realizaciones, no más del 1%, 2%,
3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%,
10 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%,
15 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 EV de
Veillonella.

[0097] En algunas realizaciones, no más del 1%, 2%,
3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%,
20 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%,
25 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 de
Veillonella.

30

[0098] 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%, 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 las EV de *Veillonella*.

[0099] 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%, 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 de *Veillonella*.

[0100] 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%, 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 EV de *Veillonella*.

5 **[0101]** 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%,
10 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 la
proteína en la composición farmacéutica es proteína de
bacterias de *Veillonella*.

15 **[0102]** 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%,
20 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 la
proteína en la composición farmacéutica es proteína EV de
25 *Veillonella*.

30 **[0103]** 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%, 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 la
5 proteína en la composición farmacéutica es proteína de
bacterias de *Veillonella*.

[0104] 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%,
10 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%,
15 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o
99% de la proteína en la composición farmacéutica es proteína
EV de *Veillonella*.

[0105] 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%,
20 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%,
25 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 de *Veillonella*.

[0106] En algunas realizaciones, al menos el 1%, 2%,
30 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%,
 5 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 EV de
Veillonella.

10 [0107] 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%,
 15 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 los
 lípidos en la composición farmacéutica son lípidos de bacterias
 20 de *Veillonella*.

[0108] 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%,
 25 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 los

30

lípidos en la composición farmacéutica son lípidos de EV de *Veillonella*.

[0109] 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%, 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 bacterias de *Veillonella*.

[0110] 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%, 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 EV de *Veillonella*.

[0111] 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%, 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 de *Veillonella*.

[0112] En algunas realizaciones, las EV de *Veillonella* en la composición farmacéutica se purifican a partir de uno u otros componentes bacterianos más. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además otros componentes bacterianos. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende células de bacterias.

[0113] Tal como se describe en detalle a continuación, las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento se pueden formular especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluyendo las adaptadas para la administración oral o rectal.

[0114] En algunas realizaciones, la composición descrita en el presente documento puede ser una composición farmacéutica, un suplemento dietético, o un producto alimenticio (por ejemplo, un alimento o bebida). En algunas realizaciones, el producto alimenticio es un pienso de animales.

[0115] En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica para administración oral descrita en el presente documento comprende un componente adicional que permite la administración eficaz de las bacterias al colon. En algunas realizaciones, se puede usar la preparación farmacéutica que permite la administración de las bacterias al colon. Los ejemplos de tales formulaciones incluyen composiciones sensibles al pH, tal como formulaciones de bolsitas tamponadas

o polímeros entéricos que liberan sus contenidos cuando el pH se vuelve alcalino después de que los polímeros entéricos pasan a través del estómago. Cuando una composición sensible al pH se usa para formular la preparación farmacéutica, la
5 composición sensible al pH puede ser un polímero cuyo umbral de pH de la descomposición de la composición está entre aproximadamente 6.8 y aproximadamente 7.5.

[0116] Otra realización de una composición farmacéutica útil para la administración de las bacterias al
10 colon es la que asegura la administración al colon retardando la liberación de las bacterias en aproximadamente 3 a 5 horas, que se corresponde con el tiempo de tránsito del intestino delgado. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica para la liberación retardada incluye una cápsula de hidrogel.
15 El hidrogel está hidratado y se hincha tras el contacto con el fluido gastrointestinal, con el resultado de que los contenidos se liberan de manera eficaz (predominantemente liberados en el colon). Las unidades de dosificación de liberación retardada incluyen composiciones que contienen bacterias que tienen un
20 material que recubre o que recubre de manera selectiva a las bacterias. Los ejemplos de tal material de recubrimiento selectivo incluyen polímeros degradables in vivo, polímeros gradualmente hidrolizables, polímeros gradualmente solubles en agua y/o polímeros degradables por enzimas. Está disponible
25 una amplia variedad de materiales de recubrimiento para retardar de manera eficaz la liberación, e incluye, por ejemplo, polímeros a base de celulosa, tales como hidroxipropilcelulosa, polímeros y copolímeros de ácido acrílico tales como polímeros y copolímeros de ácido
30

metacrílico, polímeros y copolímeros de vinilo tales como polivinilpirrolidona.

5 **[0117]** Los ejemplos de la composición que permite la administración al colo incluyen composiciones bioadhesivas que se adhieren de forma específica a la membrana mucosal del colon (por ejemplo, un polímero descrito en la memoria descriptiva de la Pat. de EE.UU. N.º 6.368.586, incorporados por el presente documento a modo de referencia) y composiciones en 10 las que se incorpora un inhibidor de proteasa para proteger de manera particular una preparación biofarmacéutica en los tractos gastrointestinales de la descomposición debido a la actividad de una proteasa.

15 **[0118]** Un ejemplo de un sistema que permite la administración al colon es un sistema de administración de una composición al colon mediante cambio de presión, de tal manera que los contenidos se liberan utilizando un cambio de presión causado por la generación de gas en la fermentación bacteriana a una porción distal del estómago. Dicho sistema no está particularmente limitado, y un ejemplo más específico del mismo 20 es una cápsula que tiene contenidos dispersados en una base de supositorio y que está recubierta con un polímero hidrófobo (por ejemplo, etilcelulosa).

25 **[0119]** Otro ejemplo del sistema que permite la administración al colon es un sistema de administración de una composición al colon, siendo el sistema descompuesto de manera específica por una enzima (por ejemplo, una carbohidrato hidrolasa o una carbohidrato reductasa) presente en el colon. Dicho sistema no está particularmente limitado, y los ejemplos 30 más específicos del mismo incluyen sistemas que usan

componentes alimenticios tales como polisacáridos no almidonados, amilosa, goma de xantano y azopolímeros.

[0120] En algunas realizaciones, las formulaciones de probióticos que contienen una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1 se proporcionan como formas encapsuladas, de recubrimiento entérico o de polvo, con dosis que varían hasta 10^{11} ufc (por ejemplo, hasta 10^{10} ufc). En algunas realizaciones, la composición comprende 5×10^{11} ufc de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1 y almidón de maíz al 10 % (p/p) en una cápsula. La cápsula tiene recubrimiento entérico para la liberación duodenal a pH 5.5. En algunas realizaciones, la cápsula tiene recubrimiento entérico para la liberación duodenal a pH 5.5. En algunas realizaciones, la composición comprende un polvo de bacterias liofilizadas de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1 que se considera estado de "Presunción cualificada de seguridad" (QPS). En algunas realizaciones, la composición es estable a temperatura congelada o refrigerada.

[0121] Los métodos para producir composiciones microbianas pueden incluir tres etapas principales de procesamiento. Las etapas son: almacenamiento de organismos, producción de organismos y preservación. En ciertas realizaciones, se puede cultivar una muestra que contenga una abundancia de la cepa bacteriana (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla1) evitando una etapa de aislamiento.

[0122] Para el almacenamiento, las cepas incluidas en la composición microbiana se pueden (1) aislar directamente de una muestra o coger de un reservorio almacenado, (2) cultivar opcionalmente en un agar o caldo nutritivo que garantiza el

crecimiento para generar biomasa viable, y (3) preservar la biomasa opcionalmente en múltiples alícuotas en el almacenamiento a largo plazo.

[0123] En realizaciones que usan una etapa de cultivo, el agar o el caldo puede contener nutrientes que proporcionan elementos esenciales y factores específicos que permiten el crecimiento. Un ejemplo será un medio compuesto por 20 g/l de glucosa, 10 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de peptona de soja, 2 g/l de ácido cítrico, 1.5 g/l de fosfato de sodio monobásico, 100 mg/l de citrato de amonio férrico, 80 mg/l de sulfato de magnesio, 10 mg/l de cloruro de hemina, 2 mg/l de cloruro de calcio, 1 mg/l de menadiona. Otro ejemplo será un medio compuesto por 10 g/l de extracto de res, 10 g/l de peptona, 5 g/l de cloruro de sodio, 5 g/l de dextrosa, 3 g/l de extracto de levadura, 3 g/l de acetato de sodio, 1 g/l de almidón soluble, y 0.5 g/l de L-cisteína HCl, a pH 6.8. Una variedad de medios microbiológicos y de variaciones son bien conocidos en la materia (por ejemplo, R.M. Atlas, *Handbook of Microbiological Media* (2010) CRC Press). El medio de cultivo se puede añadir al cultivo al comienzo, se puede añadir durante el cultivo o se puede añadir con flujo intermitente/continuo a través del cultivo. Las cepas en la composición bacteriana se pueden cultivar solas, como un subconjunto de la composición microbiana o como una colección completa que comprende la composición microbiana. Como ejemplo, se puede cultivar una primera cepa junto con una segunda cepa en un cultivo continuo mixto, a una velocidad de dilución inferior a la velocidad de crecimiento máxima de cualquiera de las células para evitar que el cultivo se elimine del cultivo.

[0124] El cultivo inoculado se incubaba en condiciones favorables durante un tiempo suficiente para generar biomasa. Para las composiciones microbianas para uso humano, esto es a menudo a 37 °C de temperatura, pH y otros parámetros con valores similares al nicho humano normal. El entorno puede controlarse activamente, controlarse pasivamente (por ejemplo, a través de tampones) o dejarse llevar. Por ejemplo, para composiciones bacterianas anaeróbicas, se puede emplear un ambiente anóxico/reductor. Esto se puede lograr mediante la adición de agentes reductores como la cisteína al caldo, y/o quitándole oxígeno. Como ejemplo, se puede cultivar un cultivo de una composición bacteriana a 37 °C, pH 7, en el medio anterior, previamente reducido con 1 g/l de cisteína-HCl.

[0125] Cuando el cultivo ha generado suficiente biomasa, se puede preservar para su almacenamiento. Los organismos se pueden colocar en un medio químico que protege contra la congelación (agregando 'crioprotectores'), secado ('lioprotectores') y/o choque osmótico ('osmoprotectores'), dispensándose en múltiples recipientes (opcionalmente idénticos) para crear un banco uniforme, y luego tratar el cultivo para su preservación. Los recipientes son generalmente impermeables y tienen cierres que aseguran el aislamiento del medio ambiente. El tratamiento de criopreservación se logra congelando un líquido a temperaturas ultrabajas (por ejemplo, a -80 °C o menos). La preservación seca elimina el agua del cultivo por evaporación (en el caso de secado por pulverización o "secado en frío") o por sublimación (por ejemplo, para secado por congelación, liofilización). La eliminación del agua mejora la estabilidad de almacenamiento de la composición microbiana a largo plazo a temperaturas elevadas por encima de las

condiciones criogénicas. Si la composición microbiana comprende, por ejemplo, especies formadoras de esporas y da como resultado la producción de esporas, la composición final se puede purificar por medios adicionales tales como centrifugación en gradiente de densidad. El almacenamiento de la composición microbiana se puede hacer cultivando y preservando las cepas individualmente, o mezclando las cepas para crear un banco combinado. Como ejemplo de crioconservación, se puede recoger un cultivo de composición microbiana por centrifugación para sedimentar las células del medio de cultivo, decantar el sobrenadante y reemplazarlo con caldo de cultivo reciente que contenga glicerol al 15 %. El cultivo se puede dividir en alícuotas en criotubos de 1 ml, sellar y colocar a -80 ° C para la conservación de la viabilidad a largo plazo. Este procedimiento logra una viabilidad aceptable tras la recuperación del almacenamiento congelado.

[0126] La producción microbiana se puede llevar a cabo utilizando etapas de cultivo similares a las del almacenamiento, incluida la composición media y las condiciones de cultivo descritas anteriormente. Se puede llevar a cabo a mayores escalas de operación, especialmente para el desarrollo clínico o la producción comercial. A escalas más grandes, puede haber varias subcultivos de la composición microbiana antes del cultivo final. Al final del cultivo, el cultivo se recoge para permitir una formulación adicional en una forma de dosificación para la administración. Esto puede implicar concentración, eliminación de componentes del medio indeseables y/o introducción en un medio químico que preserva la composición microbiana y la hace aceptable para la administración por la vía elegida. Por ejemplo, una composición

microbiana puede cultivarse a una concentración de 10^{10} UFC/ml, luego concentrarse 20 veces por microfiltración de flujo tangencial; el medio gastado se puede intercambiar por diafiltración con un medio conservante que consiste en gelatina al 2 %, trehalosa 100 mM y tampón de fosfato de sodio 10 mM. La suspensión se puede liofilizar hasta obtener un polvo y titularse.

[0127] Después de secar, el polvo se puede mezclar a una potencia apropiada, y mezclarse con otros cultivos y/o una carga tal como celulosa microcristalina para lograr consistencia y facilidad de manejo, y la composición bacteriana formulada como se proporciona en el presente documento.

[0128] En ciertos aspectos, se proporcionan composiciones bacterianas para sujetos de administración. En algunas realizaciones, las composiciones bacterianas se combinan con materiales activos y/o inactivos adicionales para producir un producto final, que puede estar en una unidad de dosificación única o en un formato de dosis múltiples.

[0129] En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un hidrato de carbono. Un "carbohidrato" se refiere a un azúcar o polímero de azúcares. Los términos "sacárido", "polisacárido", "carbohidrato" y "oligosacárido" pueden usarse indistintamente. La mayoría de los hidratos de carbono son aldehídos o cetonas con muchos grupos hidroxilo, generalmente uno en cada átomo de carbono de la molécula. Los hidratos de carbono en general 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, como glucosa, sacarosa, galactosa, manosa, ribosa, arabinosa, xilosa y

fructosa. Los disacáridos son dos monosacáridos unidos. Los disacáridos a modo de ejemplo incluyen sacarosa, maltosa, celobiosa, y lactosa. Normalmente, un oligosacárido incluye entre tres y seis unidades de monosacárido (por ejemplo, rafinosa, estaquiosa), y los polisacáridos incluyen seis o más unidades de monosacárido. Los polisacáridos a modo de ejemplo incluyen almidón, glucógeno, y celulosa. Los carbohidratos pueden contener unidades de sacárido modificadas, tal como 2'-desoxirribosa en la que se elimina un grupo hidroxilo, 2'-fluororribosa en la que un grupo hidroxilo se reemplaza con 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, conformadores, formas cíclicas, formas acíclicas, estereoisómeros, tautómeros, anómeros e isómeros.

[0130] En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un lípido. Tal 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, aceites y ácidos grasos pueden ser saturados, insaturados (cis o trans) o parcialmente insaturados (cis o trans). En algunas realizaciones el lípido comprende al menos un ácido graso seleccionado de ácido láurico (12:0), ácido mirístico (14:0), ácido palmítico (16:0), ácido palmitoleico (16:1), ácido margarico (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 docosaheptaenoico (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.

[0131] En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un suplemento mineral o fuente mineral. Los ejemplos de minerales incluyen, sin limitaciones: cloruro, sodio, calcio, hierro, cromo, cobre, yodo, zinc, 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 carbonilo, minerales reducidos y combinaciones de los mismos.

[0132] En algunas realizaciones, la composición comprende al menos un suplemento vitamínico. La al menos una vitamina puede ser vitaminas solubles en grasa o solubles en agua. Las vitaminas adecuadas incluyen pero no se limitan a 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 actividad similar de la vitamina, y metabolitos de la vitamina.

[0133] En algunas realizaciones, la composición comprende un excipiente. Los ejemplos no limitativos de excipientes adecuados incluyen un agente tamponante, un conservante, un estabilizador, un aglutinante, un agente de compactación, un lubricante, un potenciador de la dispersión, un agente de disgregación, un agente aromatizante, un edulcorante y un agente colorante.

[0134] En algunas realizaciones, el excipiente es un agente tamponante. Los ejemplos no limitativos de agentes tamponantes adecuados incluyen citrato de sodio, carbonato de magnesio, bicarbonato de magnesio, carbonato de calcio y bicarbonato de calcio.

[0135] En algunas realizaciones, el excipiente comprende un conservante. Los ejemplos no limitativos de conservantes adecuados incluyen antioxidantes, tales como alfa-tocoferol y ascorbato, y antimicrobiales, tales como parabenos, clorobutanol, y fenol.

[0136] En algunas realizaciones, la composición comprende un aglutinante como un excipiente. Los ejemplos no limitativos de aglutinantes adecuados incluyen almidones, almidones pregelatinizados, gelatina, polivinilpirolidona, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa, poliacrilamidas, poliviniloxoazolidona, poli(alcoholes vinílicos), alcohol de ácido graso C₁₂-C₁₈, polietilenglicol, polioles, sacáridos, oligosacáridos, y combinaciones de los mismos.

[0137] En algunas realizaciones, la composición comprende un lubricante como un excipiente. Los ejemplos no limitativos de lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, aceites

vegetales hidrogenados, esterotex, monoestearato de polioxietileno, talco, polietilenglicol, benzoato de sodio, laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio y aceite mineral ligero.

5 **[0138]** En algunas realizaciones, la composición comprende un potenciador de dispersión como un excipiente. Los ejemplos no limitativos de dispersantes adecuados incluyen almidón, ácido algínico, polivinilpirrolidonas, goma guar, caolín, bentonita, celulosa de madera purificada, almidón
10 glicolato de sodio, silicato isoamorfo y celulosa microcristalina como tensioactivos emulsionantes con alto contenido de HLB.

[0139] En algunas realizaciones, la composición comprende un disgregante como un excipiente. En algunas
15 realizaciones, el desintegrante es un desintegrante no efervescente. Los ejemplos no limitativos de disgregantes no efervescentes adecuados incluyen almidones tales como almidón de maíz, almidón de patata, almidones pregelatinizados y modificados de los mismos, edulcorantes, arcillas, como
20 bentonita, celulosa microcristalina, alginatos, almidón glicolato de sodio, gomas como agar, guar, algarroba, karaya, pectina y tragacanto. En algunas realizaciones, el desintegrante es un desintegrante efervescente. Los ejemplos no limitativos de disgregantes efervescentes adecuados
25 incluyen bicarbonato de sodio en combinación con ácido cítrico, y bicarbonato de sodio en combinación con ácido tartárico.

[0140] En algunas realizaciones, la formulación bacteriana comprende un recubrimiento entérico o microencapsulación. En ciertas realizaciones, el recubrimiento
30 entérico o la microencapsulación mejora la orientación a una

región deseada del tracto gastrointestinal. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la composición bacteriana comprende un recubrimiento entérico y/o microcápsulas que se disuelven a un pH asociado con una región particular del tracto gastrointestinal. En algunas realizaciones, el recubrimiento entérico y/o las microcápsulas se disuelven a un pH de aproximadamente 5.5 - 6.2 para la liberación en el duodeno, a un valor de pH de aproximadamente 7.2 - 7.5 para la liberación en el íleon y/o a un valor de pH de aproximadamente 5.6 - 6.2 para la liberación en el colon. Los recubrimientos entéricos ejemplares y las microcápsulas se describen, por ejemplo, en la Publicación de Patente de EE.UU. N.º 2016/0022592, que se incorpora por el presente documento a modo de referencia en su totalidad.

[0141] En algunas realizaciones, la composición es un producto alimenticio (por ejemplo, un alimento o bebida) tal como un alimento saludable o bebida, un alimento o bebida para bebés, un alimento o bebida para mujeres embarazadas, atletas, personas mayores u otro grupo 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 los alimentos y bebidas incluyen diversas bebidas tales como zumos, bebidas refrescantes, bebidas de té, preparaciones de bebidas, 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 tales como jamones de pescado, salchichas, productos de pasta de mariscos; productos de bolsa de retorta

tales como curry, alimento condimentado con una espesa salsa almidonada, y sopas Chinas; sopas; productos lácteos tales como leche, bebidas lácteas, helados, quesos, y yogures; productos fermentados tales como pastas de soja fermentadas, yogures, bebidas fermentadas, encurtidos; productos de frijol; diversos productos de confitería, incluyendo galletas, y similares, caramelos, gomas de mascar, gominolas, postres fríos, incluyendo gelatinas, caramelos de crema, y postres congelados; comidas instantáneas como sopas instantáneas y sopas instantáneas de soja; alimentos para microondas; y similares. Además, los ejemplos también incluyen alimentos y bebidas saludables preparados en forma de polvos, gránulos, tabletas, cápsulas, líquidos, pastas y jaleas.

[0142] En determinadas realizaciones, las bacterias desveladas en el presente documento se administran en conjunto con un prebiótico al sujeto. Los prebióticos son carbohidratos que son generalmente indistinguibles por un animal hospedador y están selectivamente fermentados o metabolizados por las bacterias. Los prebióticos pueden ser carbohidratos de cadena corta (por ejemplo, oligosacáridos) y/o azúcares simples (por ejemplo, monosacáridos y disacáridos) y/o mucinas (proteínas altamente glucosiladas) que alteran la composición o el metabolismo de un microbioma en el hospedador. Los carbohidratos de cadena corta también se refieren como oligosacáridos, y normalmente contienen de 2 o 3 hasta 8, 9, 10, 15 o más restos de azúcares. Cuando los prebióticos se introducen a un hospedador, los prebióticos afectan a las bacterias dentro del hospedador y no afectan directamente al hospedador. En ciertos aspectos, una composición de prebiótico puede estimular de manera selectiva el crecimiento y/o la

actividad de una de una serie limitada de bacterias en un hospedador. Los prebióticos incluyen oligosacáridos tales como fructooligosacáridos (FOS) (incluyendo inulina), galactooligosacáridos (GOS), trans-galactooligosacáridos, xilooligosacáridos (XOS), quitoooligosacáridos (COS), oligosacáridos de soja (por ejemplo, estaquiosa y rafinosa) gentioooligosacáridos, isomaltoooligosacáridos, manooligosacáridos, maltooligosacáridos y mananoligosacáridos. Los oligosacáridos no son necesariamente componentes individuales, y pueden ser mezclas que contienen oligosacáridos con diferentes grados de oligomerización, que a veces incluyen el disacárido original y los azúcares monoméricos. Diversos tipos de oligosacáridos se encuentran como componentes naturales en muchos alimentos comunes que incluyen frutas, hortalizas, leche y miel. Los ejemplos específicos de oligosacáridos son lactulosa, lactosacarosa, palatinosa, glucosil sacarosa, goma guar, goma arábica, tagalosa, amilosa, amilopectina, pectina, xilano y ciclodextrinas. Los prebióticos también pueden ser purificados o sintetizados química o enzimáticamente.

Administración

[0143] En ciertos aspectos, en el presente documento se proporciona un método de administración de una bacteria y/o una composición bacteriana descrita en el presente documento a un sujeto. En algunas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, las bacterias se administran junto con la administración de un agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, las bacterias se coformulan en una composición farmacéutica con el agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, las bacterias

se coadministran con el agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional se administra al sujeto antes de la administración de la bacteria (por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 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 administra al sujeto después de la administración de las bacterias (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 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, se usa el mismo modo de administración para administrar tanto las bacterias como el agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, se usan diferentes modos de administración para administrar las bacterias y el agente terapéutico adicional. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las bacterias se administran por vía oral, mientras que el agente terapéutico adicional se administra mediante inyección (por ejemplo, una inyección intravenosa, intramuscular y/o intratumoral).

[0144] En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas, las formas de dosificación, y los kits descritos en el presente documento se pueden administrar junto con cualquier otro tratamiento convencional del trastorno autoinmunitario. Estos tratamientos pueden aplicarse según sea necesario y/o según lo indicado y pueden producirse antes,

simultáneamente o después de la administración de las composiciones farmacéuticas, formas farmacéuticas y kits descritos en el presente documento.

[0145] El régimen de dosificación puede ser cualquiera de una variedad de métodos y cantidades, y puede ser determinado por un experto en la técnica de acuerdo con factores clínicos conocidos. Como se sabe en las técnicas médicas, las dosificaciones para cualquier paciente pueden depender de muchos factores, incluidas la especie, el tamaño, el área de superficie corporal, la edad, el sexo, la inmunocompetencia, la salud general, el microorganismo particular a administrar, la duración y la vía de administración del sujeto, el tipo y fase de la enfermedad, por ejemplo, el tamaño del tumor y otros compuestos, tales como los fármacos que se administran de manera concurrente. Además de los factores anteriores, tales niveles pueden verse afectados por la infectividad del microorganismo, y la naturaleza del microorganismo, como puede determinar un experto en la técnica. En los métodos actuales, los niveles de dosificación mínimos apropiados de microorganismos pueden ser niveles suficientes para que el microorganismo sobreviva, crezca y se replique. Los métodos de tratamiento descritos en el presente documento pueden ser adecuados para el tratamiento de un trastorno inmunitario (por ejemplo, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una alergia). La dosis de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede establecerse o ajustarse adecuadamente de acuerdo con la forma farmacéutica, la ruta de administración, el grado o etapa 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 1000 mg/kg de peso corporal/día, entre 0.1 mg/kg de peso corporal/día y 1000 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 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 1000 mg/kg de peso corporal/día o más, pero la dosis no se limita a los mismos.

[0146] En algunas realizaciones, la dosis administrada a un sujeto es suficiente para evitar el trastorno inmunitario, retrasar su aparición, o reducir o detener su progresión o evitar una recaída del trastorno inmunitario. Un experto en la técnica reconocerá que la dosificación dependerá de una variedad de factores que incluyen la fuerza del compuesto particular empleado, así como la edad, especie, condición y peso corporal del sujeto. El tamaño de la dosis también se determinará por la vía, el momento, la frecuencia de administración, así como la existencia, la naturaleza y el alcance de cualquier efecto secundario adverso que pueda acompañar a la administración de un compuesto particular y el efecto fisiológico deseado.

[0147] Las dosis y los regímenes de dosificación adecuados pueden determinarse mediante técnicas convencionales de búsqueda de intervalos conocidas por los expertos en la técnica. En general, el tratamiento se inicia con dosificaciones menores, que son menos que la dosis óptima del compuesto. A partir de entonces, la dosis se incrementa en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo bajo

las circunstancias. Puede determinarse un protocolo de dosificación y tratamiento eficaz por medios convencionales y convencionales, comenzando por ejemplo, con una dosis baja en animales de laboratorio y luego aumentando la dosis mientras se controlan los efectos, y variando sistemáticamente el régimen de dosificación. Los estudios en animales se usan comúnmente para determinar la dosis máxima tolerable ("MTD") de agente bioactivo por kilogramo de peso. Los expertos en la técnica extrapolan regularmente dosis para la eficacia, evitando la toxicidad, en otras especies, incluyendo los humanos.

[0148] 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, de la edad, del peso y de la afección clínica del paciente receptor, y de la experiencia y el juicio del médico o practicante que administra la terapia, entre otros factores que afectan a la dosificación seleccionada. Generalmente, la dosis debe ser suficiente para que dé como resultado una ralentización, y preferentemente una regresión del avance de un trastorno inmunitario.

[0149] Las administraciones separadas pueden incluir cualquier número de dos o más administraciones (por ejemplo, dosis) que incluyen dos, tres, cuatro, cinco o seis administraciones. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente el número de administraciones para realizar la conveniencia de realizar una o más administraciones adicionales de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica para controlar los métodos terapéuticos y otros métodos de control proporcionados en el presente documento. En algunas

realizaciones, las dosis se pueden separar en 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 o 1, 2, 3, o 4 semanas. Por consiguiente, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen métodos de proporcionar al sujeto una o más administraciones de una bacteria, en donde el número de administraciones se puede determinar haciendo un seguimiento del sujeto, y basándose en los resultados del seguimiento, determinar si se proporciona o no una o más administraciones adicionales. La decisión de proporcionar o no una o más administraciones se puede basar en una variedad de resultados del seguimiento, que incluyen, pero sin limitación, la indicación del crecimiento tumoral o de inhibición del crecimiento tumoral, la aparición de nuevas metástasis o la inhibición de metástasis, el título de anticuerpos anti-bacteria del sujeto, el título de anticuerpos anti-tumor del sujeto, la salud general del sujeto y/o el peso del sujeto.

[0150] El período de tiempo entre administraciones puede ser cualquiera de una variedad de períodos de tiempo. El periodo de tiempo entre administraciones puede ser una función de cualquiera de una variedad de factores, incluidos las etapas de monitorización, como se describe en relación con el número de administraciones, el periodo de tiempo para que un sujeto monte una respuesta inmunitaria y/o el periodo de tiempo para un sujeto a limpiar las bacterias 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, 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 inferior al período de tiempo para que un sujeto monte una respuesta inmunitaria, 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 periodo de tiempo puede ser una función del periodo de tiempo para que un sujeto elimine las bacterias del tejido normal; por ejemplo, el periodo de tiempo puede ser más que el periodo de tiempo para que un sujeto elimine las bacterias 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.

[0151] En algunas realizaciones, la administración de un agente terapéutico del trastorno inmunitario en combinación con las bacterias descritas en el presente documento reduce los efectos adversos y/o mejora la eficacia del agente terapéutico del trastorno inmunitario.

[0152] La dosis eficaz de un agente terapéutico del trastorno inmunitario descrito en el presente documento es la cantidad de agente terapéutico que es eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, composición y modo de administración con la menor toxicidad para el paciente. El nivel de dosificación eficaz puede identificarse usando los métodos descritos en el presente documento y dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos, incluyendo la actividad de las composiciones particulares administradas, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción de cada compuesto

5 empleado, la duración del tratamiento, otras drogas, compuestos y/o materiales utilizados en la combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, el sexo, el peso, la condición, el estado general de salud y el historial
10 médico previo del paciente tratado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. En general, una dosis eficaz de una terapia del trastorno inmunitario será la cantidad de agente terapéutico, que es la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Tal dosis eficaz generalmente
15 dependerá de los factores descritos anteriormente.

[0153] La toxicidad de una terapia de trastorno inmunitario es el nivel de efectos adversos que experimenta el sujeto durante y después del tratamiento. Los acontecimientos
20 adversos asociados con la toxicidad de la terapia para el trastorno inmunitario incluyen, pero no se limitan a, dolor abdominal, acidez gástrica,, reflujo ácido, reacciones alérgicas, alopecia, anafilaxia, anemia, ansiedad, falta de apetito, artralgias, astenia, ataxia, azotemia, pérdida de equilibrio, dolor óseo, hemorragia, coágulos sanguíneos,
25 presión arterial baja, presión arterial elevada, dificultad para respirar, bronquitis, hematomas, recuento bajo de glóbulos blancos, recuento bajo de glóbulos rojos, recuento bajo de plaquetas, cardiotoxicidad, cistitis, cistitis hemorrágica, arritmias, enfermedad de la válvula cardíaca, miocardiopatía, enfermedad de la arteria coronaria, cataratas, neurotoxicidad central, deterioro cognitivo, confusión, conjuntivitis, constipación, tos, calambres, cistitis, trombosis venosa profunda, deshidratación, depresión, diarrea, mareos, boca
30 seca, piel seca, dispepsia, disnea, edema, desequilibrio electrolítico, esofagitis, fatiga, pérdida de fertilidad,

fiebre, flatulencia, enrojecimiento, reflujo gástrico, enfermedad por reflujo gastroesofágico, dolor genital, granulocitopenia, ginecomastia, glaucoma, pérdida de cabello, síndrome de pies y manos, dolor de cabeza, pérdida de audición, insuficiencia cardíaca, palpitaciones del corazón, acidez estomacal, hematoma, cistitis hemorrágica, hepatotoxicidad, hiperamilasemia, hipercalcemia, hipercloremia, hiperglucemia, hipercalcemia, hiperlipasemia, hipermagnesemia, hipernatremia, hiperfosfatemia, hiperpigmentación, hipertrigliceridemia, hiperuricemia, hipoalbuminemia, hipocalcemia, hipocloremia, hipoglucemia, hipocalemia, hipomagnesemia, hiponatremia, hipofosfatemia, impotencia, infección, sitio de inyección reacciones, insomnio, deficiencia de hierro, picazón, dolor en las articulaciones, insuficiencia renal, leucopenia, disfunción hepática, pérdida de memoria, menopausia, llagas en la boca, mucositis, dolor muscular, mialgias, mielosupresión, miocarditis, fiebre neutropénica, náuseas, nefrotoxicidad, neutropenia, hemorragias nasales, entumecimiento, ototoxicidad, dolor, eritrodístesia palmo-plantar, pancitopenia, pericarditis, neuropatía periférica, faringitis, fotofobia, fotosensibilidad, neumonía, neumonitis, proteinuria, embolia pulmonar, fibrosis pulmonar, toxicidad pulmonar, erupción cutánea, latidos cardíacos rápidos, sangrado rectal, inquietud, rinitis, convulsiones, dificultad para respirar, sinusitis, trombocitopenia, tinnitus, infección del tracto urinario, sangrado vaginal, sequedad vaginal, vértigo, retención de agua, 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 los acontecimientos adversos que experimenta el sujeto debido a la terapia.

[0154] En algunas realizaciones, la administración de la composición bacteriana trata la enfermedad (por ejemplo, 5 cáncer, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad inflamatoria, enfermedad metabólica).

Agentes terapéuticos

[0155] En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen la administración a un sujeto 10 de una bacteria y/o una composición bacteriana descrita en el presente documento (por ejemplo, una composición bacteriana que comprende una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1) bien sola o en combinación con otro agente terapéutico. En algunas realizaciones, la composición bacteriana y la otra terapia se 15 puede administrar al sujeto en cualquier orden. En algunas realizaciones, la composición bacteriana y la otra terapia se administran conjuntamente.

[0156] En algunas realizaciones, la bacteria se administra al sujeto antes de que se administre el agente 20 terapéutico adicional (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, la 25 bacteria se administra al sujeto después de que se administre el agente terapéutico adicional (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 30

realizaciones, la bacteria y el agente terapéutico adicional se administran al sujeto de manera simultánea o casi simultánea (por ejemplo, las administraciones tienen lugar en una hora entre sí). En algunas realizaciones, al sujeto se le administra un antibiótico antes de que se administre la bacteria al sujeto (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 le administre la bacteria al sujeto (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 bacteria y el antibiótico se administran al sujeto de manera simultánea o casi simultánea (por ejemplo, las administraciones se dan en una hora entre sí).

[0157] En determinadas realizaciones, el sujeto puede someterse a cirugía. Los tipos de cirugía incluyen, pero sin limitación, cirugía preventiva, de diagnóstico, por etapas, curativa y paliativa.

[0158] En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un antibiótico. Por ejemplo, si se detecta la presencia de una bacteria asociada al trastorno inmunitario y/o un perfil de microbioma asociado al trastorno inmunitario de acuerdo con los métodos proporcionados en el presente documento, se pueden administrar antibióticos para eliminar del sujeto las bacterias asociadas al trastorno inmunitario.

"Antibióticos" se refiere en sentido amplio a compuestos capaces de inhibir o prevenir una infección bacteriana. Los antibióticos se pueden clasificar de una serie de formas, incluyendo su uso para infecciones específicas, su mecanismo de acción, su biodisponibilidad, o su espectro de microbios diana (por ejemplo, bacterias Gram negativas frente a Gram positivas, aeróbicas frente a anaeróbicas, etc.) y esto se puede usar para destruir bacterias específicas en zonas específicas del hospedador ("nichos")(Leekha, et al 2011. General Principles of Antimicrobial Therapy. Mayo Clin Proc. 86(2): 156-167). En determinadas realizaciones, pueden usarse los antibióticos para elegir como diana de manera selectiva bacterias de un nicho específico. En algunas realizaciones, los antibióticos conocidos por tratar una infección particular que incluye un nicho de trastorno inmunitario se pueden usar para dirigirse a los microbios asociados al trastorno inmunitario, incluyendo bacterias asociadas al trastorno inmunitario en ese nicho. En otras realizaciones, se administran los antibióticos después del tratamiento bacteriano. En algunas realizaciones, se administran los antibióticos después del tratamiento bacteriano para retirar el injerto.

[0159] En algunos aspectos, los antibióticos pueden seleccionarse basándose en 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 ADN bacteriano (por ejemplo, fluoroquinolonas). Los agentes bacteriostáticos inhiben la replicación bacteriana e incluyen sulfonamidas, tetraciclinas,

y macrólidos, y actúan inhibiendo la síntesis de proteínas. Además, si bien algunos medicamentos pueden ser bactericidas en ciertos organismos y bacteriostáticos en otros, conocer el organismo objetivo le permite a un experto en la materia seleccionar un antibiótico con las propiedades apropiadas. En determinados estados de tratamiento, los antibióticos bacteriostáticos inhiben la actividad de los antibióticos bactericidas. Por tanto, en determinadas realizaciones, no se combinan antibióticos bactericidas y bacteriostáticos.

[0160] Los antibióticos incluyen, pero no se limitan a aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefem, carbapenemas, cefalosporinas, glicopéptidos, lincosamidas, lipopéptidos, macrólidos, monobactámicos, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, antibióticos polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolona, sulfonamidas, tetraciclinas y compuestos antimicobacterianos y combinaciones de los mismos.

[0161] Los aminoglucósidos incluyen, pero no se limitan a amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, tobramicina, paromomicina y espectinomicina. Los aminoglucósidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gram negativas, como *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Francisella tularensis*, y contra determinadas bacterias aeróbicas, pero menos eficaces contra anaerobios estrictos/facultativos. Se cree que los aminoglucósidos se unen a la subunidad ribosómica bacteriana 30S o 50S inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

[0162] Las ansamicinas incluyen, pero no se limitan a, Geldanamicina, Herbimicina, Rifamicina y Estreptovaricina. Se cree que la geldanamicina y la herbimicina inhiben o alteran la función de la proteína de choque térmico 90.

[0163] Carbacephems incluyen, pero no se limitan a, Loracarbef. Se cree que los carbacefemos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana.

5 [0164] Los carbapenemas incluyen, pero no se limitan a, Ertapenem, Doripenem, Imipenem/Cilastatina, y Meropenem. Los carbapenemas son bactericidas tanto para bacterias Gram-positivas como Gram-negativas como antibióticos de amplio espectro. Se cree que los carbapenemas inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana.

10 [0165] Las cefalosporinas incluyen, pero no se limitan a, cefadroxiilo, cefazolina, cefalotina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, 15 ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, ceftarolina fosamil, y ceftobiprol. Las cefalosporinas seleccionadas son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gram negativas y contra bacterias Gram positivas, incluyendo *Pseudomonas*, determinadas Cefalosporinas son eficaces contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA). Se cree que las cefalosporinas inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al interrumpir la síntesis de la capa de peptidoglucano de las paredes celulares bacterianas.

20 [0166] Los glucopéptidos incluyen, pero no se limitan a, teicoplanina, vancomicina y telavancina. Los glucopéptidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gram-positivas aeróbicas y anaeróbicas, incluyendo MRSA y *Clostridium difficile*. Se cree que los glicopéptidos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al interrumpir la síntesis de 25 la capa de peptidoglucano de las paredes celulares bacterianas.

5 **[0167]** Las lincosamidas incluyen, pero no se limitan a, Clindamicina y Lincomicina. Las lincosamidas son eficaces, por ejemplo, contra bacterias anaeróbicas, así como Staphylococcus, y Streptococcus. Se cree que las lincosamidas se unen a la subunidad ribosómica bacteriana 50S inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

10 **[0168]** Los lipopéptidos incluyen, pero no se limitan a, Daptomicina. Los lipopéptidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gram-positivas. Se cree que los lipopéptidos se unen a la membrana bacteriana y causan una rápida despolarización.

15 **[0169]** Los macrólidos incluyen, pero no se limitan a, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina y espiamicina. Los macrólidos son eficaces, por ejemplo, contra Streptococcus y Mycoplasma. Se cree que los macrólidos se unen a la subunidad ribosómica bacteriana 50S inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

20 **[0170]** Las monobactamas incluyen, pero no se limitan a, Aztreonam. Las monobactamas son eficaces, por ejemplo, contra las bacterias Gram negativas. Se cree que las monobactamas inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al interrumpir la síntesis de la capa de peptidoglucano de las paredes celulares bacterianas.

25 **[0171]** Los nitrofuranos incluyen, pero no se limitan a, furazolidona y nitrofurantoína.

30 **[0172]** Las oxazolidononas incluyen, pero no se limitan a, linezolid, posizolid, radezolid y torezolid. Se cree que las oxazolidononas son inhibidores de la síntesis de proteínas.

[0173] Las penicilinas incluyen, pero no se limitan a, Amoxicilina, Ampicilina, Azlocilina, Carbenicilina, Cloxacilina, Dicloxacilina, Flucloxacilina, Mezlocilina, Meticilina, Nafcilina, Oxacilina, Penicilina G, Penicilina V, Piperacilina, Temocilina y Ticarcilina. Las penicilinas son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gram-positivas, anaerobios facultativos, por ejemplo, Streptococcus, Borrelia y Treponema. Se cree que las penicilinas inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana al interrumpir la síntesis de la capa de peptidoglucano de las paredes celulares bacterianas.

[0174] Las combinaciones de penicilina incluyen, pero no se limitan a, amoxicilina/clavulanato, ampicilina/sulbactam, piperacilina/tazobactam, y ticarcilina/clavulanato.

[0175] Los antibióticos polipéptidos incluyen, pero no se limitan a, Bacitracina, Colistina, y Polimixina B y E. Los antibióticos polipéptidos son eficaces, por ejemplo, contra bacterias Gram negativas. Se cree que determinados antibióticos polipéptidos inhiben el pirofosfato de isoprenilo involucrado en la síntesis de la capa de peptidoglicano de las paredes celulares bacterianas, mientras que otros desestabilizan la membrana externa bacteriana al desplazar los contraiones bacterianos.

[0176] Las quinolonas y fluoroquinolonas incluyen, pero no se limitan a, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, gemifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, ácido nalidíxico, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina, grepafloxacina, sparxacina, temarfloxacina. Las quinolonas/fluoroquinolonas son eficaces, por ejemplo, contra Streptococcus y Neisseria. Se cree que las

quinolonas/fluoroquinolonas inhiben la ADN girasa bacteriana o la topoisomerasa IV, inhibiendo así la replicación y transcripción del ADN.

5 **[0177]** Las sulfonamidas incluyen, pero no se limitan a, mafenida, sulfacetamida, sulfadiazina, sulfadiazina de plata, sulfadimetoxina, sulfametizol, sulfametoxazol, sulfonamida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol (Co-trimoxazol), y sulfonamidocrisoidina. Se cree que las sulfonamidas inhiben la síntesis de folato
10 mediante inhibición competitiva de dihidropteroato sintetasa, inhibiendo de ese modo la síntesis de ácido nucleico.

[0178] Las tetraciclinas incluyen, pero no se limitan a, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, y tetraciclina. Las tetraciclinas son eficaces, por ejemplo,
15 contra las bacterias Gram negativas. Se cree que las tetraciclinas se unen a la subunidad ribosómica bacteriana 30S inhibiendo así la síntesis de proteínas bacterianas.

[0179] Los compuestos antimicobacterianos incluyen, pero no se limitan a, clofazimina, dapsonacapreomicina,
20 cicloserina, etambutol, etionamida, isoniazid, pirazinamida, rifampicina, rifabutina, rifapentina, y estreptomicina.

[0180] Los antibióticos adecuados también incluyen arsfenamina, cloramfenicol, fosfomicina, ácido fusídico, metronidazol, mupirocina, platensimicina,
25 quinupristina/dalfopristina, tigeciclina, tinidazol, trimetoprima amoxicilina/clavulanato, ampicilina/sulbactam, anfomicina-ristocetina, azitromicina, bacitracina, buforina II, carbomicina, cecropina Pl, claritromicina, eritromicinas, furazolidona, ácido fusídico, fusidato de Na, gramicidina,
30 imipenem, indolicidina, josamicina, magainan II, metronidazol,

nitroimidazoles, mikamicina, mutacina B-Ny266, mutacina B-JH1
140, mutacina J-T8, nisina, nisina A, novobiocina,
oleandomicina, ostreogricina, piperacilina/tazobactam,
pristinamicina, ramoplanina, ranalexina, reuterina,
5 rifaximina, rosamicina, rosaramicina, espectinomicina,
espiramicina, estafilomicina, estreptogramina, estreptogramina
A, sinergistina, tauroolidina, teicoplanina, telithromicina,
ticarcilina/ácido clavulánico, triacetiloleandomicina,
tilosina, tirocidina, tirotricina, vancomicina, vemamicina, y
10 virginiamicina.

[0181] En algunas realizaciones, el agente terapéutico
adicional es un agente inmunosupresor, un DMARD, un fármaco
para el control del dolor, un esteroide, un medicamento
antiinflamatorio no esteroideo (AINE), o un antagonista de
15 citocinas, y combinaciones de los mismos. Los agentes
representativos incluyen, pero no se limitan a, ciclosporina,
retinoides, corticosteroides, derivado de ácido propiónico,
derivado de ácido acético, derivados de ácido enólico,
derivados de ácido fenámico, inhibidores de Cox-2, lumiracoxib,
20 ibuprofeno, salicilato de magnesio colínico, fenoprofeno,
salsalato, difunisal, tolmetina, ketoprofeno, flurbiprofeno,
oxaprocina, indometacina, sulindac, etodolac, ketorolac,
nabumetona, naproxeno, valdecoxib, etoricoxib, MK0966;
rofecoxib, acetominofeno, Celecoxib, Diclofenaco, tramadol,
25 piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam,
isoxicam, ácido mefanámico, ácido meclofenámico, ácido
flufenámico, tolfenámico, valdecoxib, parecoxib, etodolac,
indometacina, aspirina, ibuprofeno, firocoxib, metotrexato
(MTX), fármacos antimalaria, (por ejemplo, hidroxicloroquina y
30 cloroquina), sulfasalacina, Leflunomida, azatioprina,

ciclosporina, sales de oro, minociclina, ciclofosfamida, D-penicilamina, minociclina, auranofina, tacrolimo, miocrisina, clorambucilo, antagonistas de TNF alfa (por ejemplo, antagonistas de TNF alfa o antagonistas del 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®), TOCILIZUMAB (RoActemra/Actemra®), antagonistas de integrinas (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 de BLYS (p. Ej., Atacicept, 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, triamcinolona, beclometasoma, fludrocortisona, desoxicorticosterona, aldosterona, doxiciclina, vancomicina, pioglitazona, SBI-087, SCIO-469, Cura-100, Oncoxia + Viusid, TwHF, Methoxsalen, Vitamina D - ergocalciferol, Milnacipran, Paclitaxel, rosig tazona, Tacrolimus (Prograf®), RAD001, rapamune, rapamicina, fostamatinib, Fentanilo, XOMA 052, Fostamatinib disodio, rosigtazona, Curcumina (Longvida™), Rosuvastatina, Maraviroc, ramipn1, Milnacipran, Cobiprostona, somatropina, vector de terapia génica tgAAC94, MK0359, GW856553, inhibidores de esomeprazol, everolimus, trastuzumab, inhibidores de JAK1 y JAK2, inhibidores pan JAK, p. ej., piridona 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 integrinas (Tysarbri® (natalizumab)), antagonistas de VEGF, antagonistas de 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 de receptor, anticuerpos antagonistas, etc.).

[0182] En algunas realizaciones, el agente es un agente inmunosupresor. Los ejemplos de agentes inmunosupresores incluyen, pero no se limitan a, corticoesteroides, mesalazina, mesalamina, sulfasalazina, derivados de sulfasalazina, fármacos inmunosupresores, ciclosporina A, mercaptopurina, azatiopurina, prednisona, metotrexato, antihistaminas, glucocorticoides, epinefrina, teofilina, cromolin sódico, antileucotrienos, fármacos anti-colinérgicos para rinitis, antagonistas de TLR, inhibidores de inflammasoma, descongestionantes anticolinérgicos, estabilizadores de mastocitos, anticuerpos anti-IgE monoclonales, vacunas (por ejemplo, vacunas usadas para vacunación donde la cantidad de un alérgeno aumenta gradualmente), inhibidores de citocinas, tales como anticuerpos anti-IL-6, inhibidores de TNF tales como infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab, o etanercept, y combinaciones de los mismos.

[0183] En algunas realizaciones la terapia del trastorno inmunitario comprende la administración de una bacteria terapéutica y/o una combinación terapéutica de la bacteria al sujeto de manera que se pueda reconstituir un microbioma sano en el sujeto. En algunas realizaciones la bacteria terapéutica es una bacteria asociada a un trastorno

no inmunitario. En algunas realizaciones, la bacteria terapéutica es una bacteria probiótica.

[0184] En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente terapéutico contra el cáncer. En algunas realizaciones, el agente terapéutico contra el cáncer es un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de tales agentes quimioterápicos incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes tales como ciclosfosfamida; sulfonatos de alquilo tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluyendo el topotecán análogo sintético); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma y calicheamicina omegal1; dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como

clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de enediina de cromoproteína relacionada, aclacinomisinas, actinomicina, autrarnicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinis, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; antiadrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor de ácido fólico tales como ácido frolínico; aceglatona; aldofosfamida glucósido; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elformitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglucido; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinano; lonidainina; maytansinoides tales como maytansina y ansamitocinas;

mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina;
pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido
podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de
polisacárido PSK); razoxano; rizoxina; sizofurano;
5 espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2''-
triclorotrietilamina; triclotcenos (especialmente T-2 toxina,
verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina;
dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol;
pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida;
10 tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel y doxetaxel;
clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina;
metotrexato; complejos de coordinación de platino tales como
cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino;
etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina;
15 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 sales farmacéuticamente aceptables,
20 ácidos o derivados de cualquier de los anteriores.

[0185] En algunas realizaciones, el agente terapéutico
contra el cáncer es un agente inmunoterapéutico contra el
cáncer. Inmunoterapia se refiere a un tratamiento que usa el
sistema inmunitario de un sujeto para tratar el cáncer, por
25 ejemplo, inhibidores del punto de control, vacunas contra el
cáncer, citocinas, terapia celular, células CAR-T, y terapia
de células dendríticas. Los ejemplos no limitativos de
inmunoterapias son inhibidores del punto de control incluyen
Nivolumab (BMS, anti-PD-1), Pembrolizumab (Merck, anti-PD-1),
30 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, sipulencel-T, Gp100:209-217, AGS-003, DCVax-L, Algenpantucel-L, Tergenpantucel-L, TG4010, ProstAtak, Prostrvac-V/R-TRICOM, Rindopepimul, acetato de péptido E75, IMA901, POL-103A, Belagenpumatucel-L, GSK1572932A, MDX-1279, GV1001, y Tecemotida. La inmunoterapia puede administrarse a través de inyección (por ejemplo, por vía intravenosa, por vía intratumoral, por vía subcutánea, o en ganglios linfáticos), pero también puede administrarse por vía oral, por vía tópica, o a vía aerosol. Las inmunoterapias pueden comprender adyuvantes tales como las citocinas.

[0186] En algunas realizaciones, el agente inmunoterapéutico es un inhibidor del punto de control inmunitario. La inhibición del punto de control inmunitario se refiere en general a la inhibición de los puntos de control que las células cancerosas pueden producir para prevenir o disminuir la respuesta inmunitaria. Los ejemplos de proteínas de punto de control inmunitario incluyen, pero no se limitan a, 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 inmunitario pueden ser anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen e inhiben una proteína del punto de control inmunitario. Los ejemplos de inhibidores del punto de control inmunitario incluyen, pero no se limitan a, nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, MEDI-4736, MSB-0020718C, AUR-012 y STI-A1010.

[0187] En algunas realizaciones, el agente inmunoterapéutico es un anticuerpo o fragmento de unión al

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, alfa-fetoproteína ("AFP"), ARTC1, B-
5 RAF, BAGE-1, BCLX (L), proteína de fusión BCR-ABL b3a2, beta-catenina, BING-4, CA-125, CALCA, antígeno carcinoembriónico ("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,
10 factor de elongación 2, ENAH (hMena), Ep-CAM, EpCAM, EphA3, antígeno de tumor 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, glipican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsina, HER-2/neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-
15 DOB, hsp70-2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxilesterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KMHN-1, KMHN1 también conocida como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasaAS, Lengsina, M-CSF, MAGE-A1, MAGE-A10, MAGE-A12, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-
20 A9, MAGE-C1, MAGE-C2, enzima málica, mammaglobina-A, MART2, MATN, MC1R, MCSP, mdm-2, ME1, Melan-A/MART-1, Meloe, Midcina, MMP-2, MMP-7, MUC1, MUC5AC, mucina, MUM-1, MUM-2, MUM-3, Miosina, Miosina de clase I, N-raw, 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
25 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,
30

Triosafosfato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1, XAGE-1b/GAGED2a. En algunas realizaciones, el antígeno es un neo-antígeno.

5 **[0188]** En algunas realizaciones, el agente inmunoterapéutico es una vacuna contra el cáncer y/o un componente de una vacuna contra el cáncer (por ejemplo, un péptido antigénico y/o proteína). La vacuna contra el cáncer puede ser una vacuna de proteína, una vacuna de ácido nucleico o una combinación de los mismos. Por ejemplo, en algunas
10 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 para un epítipo de un antígeno asociado al
15 cáncer. En algunas realizaciones, el ácido nucleico es un vector (por ejemplo, un vector bacteriano, vector vírico). Los ejemplos de vectores bacterianos incluyen, pero sin limitación, *Mycobacterium bovis* (BCG), *Salmonella Typhimurium* ssp., *Salmonella Typhi* ssp., *Clostridium* sp. spores, *Escherichia coli* Nissle 1917, *Escherichia coli* K-12/LL0, *Listeria monocytogenes* y *Shigella flexneri*. Los ejemplos de vectores víricos incluyen, pero sin limitación, vaccinia, adenovirus, virus de ARN, y avipox con replicación defectuosa, viruela aviar con replicación defectuosa, viruela del canario con replicación defectuosa, MVA con replicación defectuosa y adenovirus con replicación defectuosa.
20
25

[0189] En algunas realizaciones, la inmunoterapia del cáncer comprende la administración de una célula presentadora de antígeno (APC) sensibilizada con un antígeno específico del
30

cáncer. En algunas realizaciones, la APC es una célula dendrítica, un macrófago o un linfocito B.

[0190] Los ejemplos de antígenos asociados al cáncer incluyen, pero sin limitación, adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("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 de tumor 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, glipican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsina, HER-2/neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70-2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralfa2, carboxilesterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasaAS, 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, mammaglobina-A, MART2, MATN, MC1R, MCSP, mdm-2, ME1, Melan-A/MART-1, Meloe, Midcina, MMP-2, MMP-7, MUC1, MUC5AC, mucina, MUM-1, MUM-2, MUM-3, Miosina, Miosina clase I, N-raw, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ES0-1/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, Triosafofosfato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1, XAGE-1b/GAGED2a. En algunas realizaciones, el antígeno es un neo-antígeno.

5 **[0191]** En algunas realizaciones, la inmunoterapia contra el cáncer comprende la administración de un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico de cáncer. En algunas realizaciones, el CAR se administra en la superficie de un linfocito T. En algunas realizaciones, el CAR se une de manera
10 específica a un antígeno asociado al cáncer.

[0192] En algunas realizaciones, la inmunoterapia del cáncer comprende la administración de un linfocito T específico del cáncer al sujeto. En algunas realizaciones, el linfocito T es un linfocito T CD4+. En algunas realizaciones, el linfocito
15 T CD4+ es un linfocito T TH1, un linfocito T TH2 o un linfocito T TH17. En algunas realizaciones, el linfocito T expresa un receptor específico de linfocitos T para un antígeno asociado al cáncer.

[0193] En algunas realizaciones, la vacuna contra el
20 cáncer se administra con un adyuvante. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, una proteína inmunomoduladora, adyuvante 65, α -GalCer, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, fosfato de calcio, péptido de β -Glucano, CpG ODN ADN, GPI-0100, lípido A, lipopolisacárido, Lipovant,
25 Montanida, N-acetil-muramil-L-alanil-D-isoglutamina, Pam3CSK4, quil A, toxina del cólera (CT) y toxina termolábil de *Escherichia coli* (LT) enterotoxigénica incluyendo derivados de estos (CTB, mmCT, CTA1-DD, LTB, LTK63, LTR72, dmLT) y trehalosa dimicolato.
30

[0194] En algunas realizaciones, el agente inmunoterapéutico 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, quimioatrayente de linfocito B ("BLC"), quimiocina de motivo C-C 11 ("Eotaxina-1"), proteína quimiotáctica de eosinófilos 2 ("Eotaxina-2"), factor estimulante de colonias de granulocitos ("G-CSF"), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos ("GM-CSF"), 1-309, molécula de adhesión intercelular 1 ("ICAM-1"), Interferón alfa ("IFN-alfa"), Interferón beta ("IFN-beta") Interferón gamma ("IFN-gamma"), Interleucina-1 alfa ("IL-1 alfa"), Interleucina-1 beta ("IL-1 beta"), antagonista de receptor de Interleucina 1 ("IL-1 ra"), Interleucina-2 ("IL-2"), Interleucina-4 ("IL-4"), Interleucina-5 ("IL-5"), Interleucina-6 ("IL-6"), receptor soluble de Interleucina-6 ("IL-6 sR"), Interleucina-7 ("IL-7"), 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"), Interleucina-21 ("IL-21"), Interleucina-22 ("IL-22"), Interleucina-23 ("IL-23"), Interleucina-33 ("IL-33"), Quimiocina (motivo C-C) Ligando 2 ("MCP-1"), factor estimulante de colonias de macrófagos ("M-CSF"), Monocina inducida por gamma interferón ("MIG"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 2 ("MIP-1 alfa"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 4 ("MIP-1 beta"), Proteína inflamatoria de macrófagos- 1 -delta ("MIP-1 delta"), subunidad B de factor de crecimiento derivado de

plaquetas ("PDGF-BB"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 5, linfocitos T normales regulados en la activación, expresados y secretados ("RANTES"), inhibidor de metaloproteinasa TIMP 1 ("TIMP-1"), inhibidor de metaloproteinasa TIMP 2 ("TIMP-2"),
5 factor de necrosis tumoral, linfoxina alfa ("TNF alfa"), factor de necrosis tumoral, linfoxina-beta ("TNF beta"), receptor de TNF soluble de tipo 1 ("sTNFRI"), sTNFRIIAR, factor neurotrófico derivado del cerebro ("BDNF"), factor básico de crecimiento de fibroblastos ("bFGF"), proteína morfogenética ósea 4 ("BMP-4"), proteína morfogenética ósea 5 ("BMP-5"),
10 proteína morfogenética ósea 7 ("BMP-7"), factor de crecimiento de nervios ("b-NGF"), factor de crecimiento epidérmico ("EGF"), receptor de 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 las células de la Glía ("GDNF"), Hormona del crecimiento, factor de crecimiento de tipo EGF de unión a heparina ("HB-EGF"), factor de crecimiento de hepatocitos ("HGF"), proteína 1 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-1"), proteína 2 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-2"), proteína 3 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-3"),
25 proteína 4 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-4"), proteína 6 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-6"), factor de crecimiento 1 de tipo insulina ("IGF-1"), Insulina, factor estimulante de colonias de macrófagos ("M-CSF R"), receptor de factor de crecimiento de nervios ("NGF R"), Neurotrofina-3 ("NT-3"),
30

Neurotrofina-4 ("NT-4"), factor inhibidor de la osteoclastogénesis ("Osteoprotegerina"), receptores de factor de crecimiento derivado de plaquetas ("PDGF-AA"), biosíntesis de fosfatidilinositol-glucano ("PIGF"), Skp, Culina, complejo
5 que contiene la F-box ("SCF"), receptor del factor de células madre ("SCF R"), factor de crecimiento transformante alfa ("TGFalpha"), factor de crecimiento transformante beta-1 ("TGF beta 1"), factor de crecimiento transformante beta-3 ("TGF beta 3"), factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGF"),
10 receptor de factor de crecimiento endotelial vascular 2 ("VEGFR2"), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular 3 ("VEGFR3"), VEGF-D 6Ckina, receptor de cinasa de proteína tirosina UFO ("Axl"), Betacelulina ("BTC"), quimiocina epitelial asociado a la mucosa ("CCL28"), Quimiocina
15 (motivo C-C) ligando 27 ("CTACK"), Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 16 ("CXCL16"), quimiocina de motivo C-X-C 5 ("ENA-78"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 26 ("Eotaxina-3"), proteína quimiotáctica de granulocitos 2 ("GCP-2"), GRO, Quimiocina (motivo C-C) ligando 14 ("HCC-l"), Quimiocina (motivo C-C)
20 ligando 16 ("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"), quimiocina de motivo C-X-C 10 ("IP-10"), receptor de quimiocina CXCR3 ("I-TAC"), factor
25 inhibidor de leucemia ("LIF"), Ligera, Quimiocina (motivo C) ligando ("Linfotactina"), Proteína quimioatrayente de monocitos 2 ("MCP-2"), Proteína quimioatrayente de monocitos 3 ("MCP-3"), Proteína quimioatrayente de monocitos 4 ("MCP-4"), quimiocina derivada de macrófagos ("MDC"), factor inhibidor de
30 migración de macrófagos ("MIF"), Quimiocina (motivo C-C)

ligando 20 ("MIP-3 alfa"), quimiocina de motivo C-C 19 ("MIP-3 beta"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 23 ("MPIF-1"), Cadena alfa de proteína estimulante de macrófagos ("MSPalfa"), proteína de ensamblaje de nucleosoma de tipo 1 4 ("NAP-2"), fosfoproteína secretada 1 ("Osteopontina"), citosina pulmonar y regulada por la activación ("PARC"), factor de plaquetas 4 ("PF4"), factor derivado de células del estroma 1 ("SDF-1 alfa"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 17 ("TARC"), quimiocina expresada en el timo ("TECK"), linfopoyetina estromal tímica ("TSLP 4- IBB"), antígeno CD 166 ("ALCAM"), Grupo de diferenciación 80 ("B7-1"), miembro de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral 17 ("BCMA"), grupo de diferenciación 14 ("CD14"), grupo de diferenciación 30 ("CD30"), grupo de diferenciación 40 ("Ligando CD40"), molécula de adhesión celular relacionado con el antígeno carcinoembriónico 1 (glucoproteína biliar) ("CEACAM-1"), receptor de muerte 6 ("DR6"), Desoxitimidina cinasa ("Dtk"), glucoproteína de membrana de tipo 1 ("Endoglina"), Receptor cinasa de proteína tirosina erbB-3 ("ErbB3"), molécula de adhesión leucocito-endotelial ("E-Selectina"), antígeno de apoptosis 1 ("Fas"), tirosina cinasa de tipo Fms 3 ("Flt-3L"), miembro de superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral ("GITR"), miembro de superfamilia de factor de necrosis tumoral 14 ("HVEM"), molécula de adhesión intecelular 3 ("ICAM-3"), IL-1 R4, IL-1 RI, IL-10 Rbeta, IL-17R, IL-2Rgamma, IL-21R, proteína de membrana de lisosoma 2 ("LIMP2"), lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos ("Lipocalina-2"), CD62L ("L-Selectina"), endotelio linfático ("LYVE-1"), secuencia A asociada al polipéptido de MHC de clase I ("MICA"), secuencia B asociada al polipéptido de MHC de clase I ("MICB"), NRGL-

betal, receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas de tipo Beta ("PDGF Rbeta"), molécula de adhesión celular endotelial de plaquetas ("PECAM-1"), RAGE, receptor celular del virus de la Hepatitis A ("TIM-1"), Miembro de la
5 superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral IOC ("TRAIL R3"), dominio de unión transglutaminasa de la proteína Trappina ("Trappin-2"), receptor de urocinasa ("uPAR"), proteína de adhesión celular vascular 1 ("VCAM-1"), XEDARActivina A, proteína asociada con Agouti ("AgRP"),
10 Ribonucleasa 5 ("Angiogenina"), Angiopoyetina 1, Angiostatina, Cateprina S, CD40, proteína de la familia Cryptic IB ("Cripto-1"), DAN, proteína relacionada con Dickkopf 1 ("DKK-1"), E-Cadherina, molécula de adhesión celular epitelial ("EpCAM"), Ligando Fas (FasL o CD95L), Fcg RIIB/C, FoUistatina, Galectina-
15 7, molécula de adhesión intercelular 2 ("ICAM-2"), IL-13 R1, IL-13R2, IL-17B, IL-2 Ra, IL-2 Rb, IL-23, LAP, molécula de adhesión celular neuronal ("NrCAM"), inhibidor de activador del plasminógeno 1 ("PAI-1"), receptores del factor de crecimiento derivados de plaquetas ("PDGF-AB"), Resistina,
20 factor derivado de células estromales 1 ("SDF-1 beta"), sgpl30, proteína relacionada con frizzled secretada 2 ("ShhN"), lectinas de tipo inmunoglobulina de unión a ácido siálico ("Siglec-5"), ST2, factor de crecimiento transformante beta 2 ("TGF beta 2"), Tie-2, Trombopoyetina ("TPO"), miembro de la
25 superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral 10D ("TRAIL R4"), receptor de cascada expresado en células mieloides 1 ("TREM-1"), factor C de crecimiento endotelial vascular C ("VEGF-C"), VEGFR1Adiponectina, Adipsina ("AND"), Alfa-fetoproteína ("AFP"), Angiopoyetina tipo 4 ("ANGPTL4"),
30 Beta-2-microglobulina ("B2M"), molécula de adhesión de células

basales ("BCAM"), antígeno de carbohidrato 125 ("CA125"), antígeno de cáncer 15-3 ("CA15-3"), antígeno carcinoembrionario ("CEA"), proteína del receptor de AMPc ("CRP"), Receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 ("ErbB2"),
5 Folistatina, hormona folículoestimulante ("FSH"), Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 1 ("GRO alfa"), gonadotropina coriónica humana ("beta HCG"), receptor de factor de crecimiento de tipo insulina 1 ("IGF-1 sR"), IL-1 sRII, IL-3, IL-18 Rb, IL-21, Leptina, Metaloproteinasa de matriz 1 ("MMP-1"),
10 Metaloproteinasa de matriz 2 ("MMP-2"), Metaloproteinasa de matriz 3 ("MMP-3"), Metaloproteinasa de matriz 8 ("MMP-8"), Metaloproteinasa de matriz 9 ("MMP-9"), Metaloproteinasa de matriz 10 ("MMP-10"), Metaloproteinasa de matriz 13 ("MMP-13"), molécula de adhesión de células neuronales ("NCAM-1"),
15 Entactina ("Nidogen-1"), enolasa específica de neuronas ("NSE"), Oncostatina M ("OSM"), Procalcitonina, Prolactina, antígeno específico de próstata ("PSA"), lectina de tipo Ig de unión a ácido siálico 9 ("Siglec-9"), endopeptidasa ADAM 17 ("TACE"), Tiroglobulina, inhibidor de metaloproteinasa 4 ("TIMP-4"),
20 TSH2B4, proteína que contiene el dominio desintegrina y metaloproteinasa 9 ("ADAM-9"), Angiopoyetina 2, miembro de la superfamilias de ligandos de factor de necrosis tumoral 13/miembro B de la familia de fosfoproteína 32 nuclear rica en leucina ácida ("APRIL"), proteína morfogenética ósea 2 ("BMP-2"),
25 Proteína morfogenética ósea 9 ("BMP-9"), componente del complemento 5a ("C5a"), Cathepsina L, CD200, CD97, Quemerina, Miembro 6B de superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral ("DcR3"), proteína de unión a ácidos grasos 2 ("FABP2"), proteína de activación de fibroblastos, alfa ("FAP"),
30 ("FAP"), factor de crecimiento de fibroblastos 19 ("FGF-19"),

Galectina-3, receptor de factor de crecimiento de hepatocitos ("HGF R"), IFN-gammalfa/beta R2, factor de crecimiento de tipo insulina 2 ("IGF-2"), receptor de factor de crecimiento de tipo insulina 2 ("IGF-2 R"), receptor de interleucina 1 6 ("IL-1R6"), Interleucina 24 ("IL-24"), Interleucina 33 ("IL-33",
5 Kalikreína 14, Asparaginil endopeptidasa ("Legumaína"), receptor de lipoproteína de baja densidad oxidado 1 ("LOX-1"), lectina de unión a manosa ("MBL"), Neprilisina ("NEP"), homólogo de Notch 1, proteína de muerte celular asociada a la translocación (Drosophila) ("Notch-1"), Nefroblastoma sobreexpresado ("NOV"), Osteoactivina, proteína de muerte celular programada 1 ("PD-1"), N-acetilmuramoil-L-alanina amidasa ("PGRP-5"), Serpina A4, proteína relacionada con frizzled secretada 3 ("sFRP-3"), Trombomodulina, receptor de tipo Toll 2 ("TLR2"), miembro de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral 10A ("TRAIL R1"), Transferrina ("TRF"), WIF-lACE-2, Albúmina, AMICA, Angiopoyetina 4, factor activador de linfocitos B ("BAFF"), antígeno de carbohidratos 19-9 ("CA19-9"), CD 163, Clusterina, CRT AM, Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 14 ("CXCL14"), Cistatina C, Decorina ("DCN"),
10 proteína relacionada con Dickkopf 3 ("Dkk-3"), proteína de tipo Delta 1 ("DLL1"), Fetuina A, factor de crecimiento de unión a heparina 1 ("aFGF"), receptor de folato alfa ("FOLR1"), Furina, proteína de clasificación asociada a GPCR 1 ("GASP-1"),
15 proteína de clasificación asociada a GPCR 2 ("GASP-2"), receptor de factor estimulante de colonias de granulocitos ("GCSF R"), hepsina de serina proteasa ("HAI-2"), receptor de interleucina 17B ("IL-17B R"), Interleucina 27 ("IL-27"), gen de activación de linfocitos 3 ("LAG-3"), Apolipoproteína A-V ("LDL R"), Pepsinógeno I, proteína de unión a Retinol 4
20
25
30

("RBP4"), SOST, proteoglicano de Heparán sulfato ("Sindecano-1"), miembro de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral 13B ("TACI"), inhibidor de la vía de factor tisular ("TFPI"), TSP-1, miembro de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral 10b ("TRAIL R2"), TRANCE, Troponina I, activador de plasminógeno de urocinasa ("uPA"), Cadherina 5, tipo 2 o VE-cadherina (endotelial vascular) también conocida como CD144 ("VE-Cadherina"), proteína de vía de señalización inducible por WNT1 ("WISP-1"), y activador del receptor del factor nuclear κ B ("RANK").

[0195] En algunas realizaciones, el agente terapéutico contra el cáncer es un compuesto anticanceroso. Los compuestos anticancerosos a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, Alemtuzumab (Campath®), Alitretinoína (Panretin®), Anastrozol (Arimidex®), Bevacizumab (Avastin®), Bexaroteno (Targretin®), Bortezomib (Velcade®), Bosutinib (Bosulif®), Brentuximab vedotin (Adcetris®), Cabozantinib (Cometriq™), Carfilzomib (Kyprolis™), Cetuximab (Erbitux®), Crizotinib (Xalkori®), Dasatinib (Sprycel®), Denileukin diftitox (Ontak®), cloridrato de erlotinibe (Tarceva®), Everolimus (Afinitor®), Exemestano (Aromasin®), Fulvestrant (Faslodex®), Gefitinib (Iressa®), Ibritumomab tiuxetán (Zevalin®), mesilato de Imatinib (Gleevec®), Ipilimumab (Yervoy™), ditosilato de Lapatinib (Tykerb®), Letrozol (Femara®), Nilotinib (Tasigna®), Ofatumumab (Arzerra®), Panitumumab (Vectibix®), clorhidrato de Pazopanib (Votrient®), Pertuzumab (Perjeta™), Pralatrexato (Folotyn®), Regorafenib (Stivarga®), Rituximab (Rituxan®), Romidepsina (Istodax®), tosilato de dorafenib (Nexavar®), 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 (Zaltrap®).

5 **[0196]** Los compuestos anticancerosos a modo de ejemplo que modifican la función de proteínas que regulan la expresión génica y otras funciones celulares (por ejemplo, inhibidores de HDAC, ligantes del receptor retinoide) son Vorinostat (Zolinza®), Bexaroteno (Targretin®) y Romidepsina (Istodax®),
10 Alitretinoína (Panretin®), y Tretinoína (Vesanoid®).

[0197] Los compuestos anticancerosos a modo de ejemplo que inducen apoptosis (por ejemplo, inhibidores del proteasoma, antifolatos) son Bortezomib (Velcade®), Carfilzomib (Kyprolis™), y Pralatrexato (Folotyn®).

15 **[0198]** Los compuestos anticancerosos a modo de ejemplo que aumentan la respuesta inmunitaria antitumoral (por ejemplo, anti CD20, anti CD52; antígeno asociado a linfocitos T anti-citotóxicos-4) son Rituximab (Rituxan®), Alemtuzumab (Campath®), Ofatumumab (Arzerra®), y Ipilimumab (Yervoy™).

20 **[0199]** Los compuestos anticancerosos a modo de ejemplo que administran agentes tóxicos a las células cancerosas (por ejemplo, fusiones de radionúclidos anti-CD20; Fusiones de toxina IL-2-difteria; anti-CD30- fusiones de monometilauristatina E (MMAE)) son Tositumomab y ¹³¹I-tositumomab (Bexxar®) y Ibritumomab tiuxetán (Zevalin®),
25 Denileukin diftitox (Ontak®), y Brentuximab vedotin (Adcetris®).

[0200] Otros compuestos anticancerosos a modo de ejemplo son inhibidores de molécula pequeña y conjugado de los

30

mismos de, por ejemplo, Janus cinasa, ALK, Bcl-2, PARP, PI3K, VEGF receptor, Braf, MEK, CDK, y HSP90.

[0201] Los ejemplos de compuestos anticancerosos basados en platino incluyen, por ejemplo, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, satraplatino, picoplatino, nedaplatino, triplatino y lipoplatino. Otros fármacos basados en metales adecuados para el tratamiento incluyen, pero no se limitan a compuestos a base de rutenio, derivados de ferroceno, compuestos a base de titanio, y compuestos a base de galio.

[0202] En algunas realizaciones, el agente terapéutico contra el cáncer es un resto radiactivo que comprende un radionúclido. Los radionúclidos a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a 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.

[0203] En algunas realizaciones, el agente terapéutico contra el cáncer es un antibiótico. Por ejemplo, si la presencia de bacterias asociadas al cáncer y/o se detecta un perfil de microbioma asociado al cáncer de acuerdo con los métodos proporcionados en el presente documento, pueden administrarse antibióticos para eliminar las bacterias asociadas al cáncer del sujeto. "Antibióticos" se refiere en sentido amplio a compuestos capaces de inhibir o prevenir una infección bacteriana. Los antibióticos se pueden clasificar de

una serie de formas, incluyendo su uso para infecciones específicas, su mecanismo de acción, su biodisponibilidad, o su espectro de microbios diana (por ejemplo, bacterias Gram negativas frente a Gram positivas, aeróbicas frente a anaeróbicas, etc.) y esto se puede usar para destruir bacterias específicas en zonas específicas del hospedador ("nichos")(Leekha, et al 2011. General Principles of Antimicrobial Therapy. Mayo Clin Proc. 86(2): 156-167). En determinadas realizaciones, pueden usarse los antibióticos para elegir como diana de manera selectiva bacterias de un nicho específico. En algunas realizaciones, los antibióticos que se sabe que tratan una infección particular que incluye un nicho de cáncer pueden usarse para elegir como diana los microbios asociados con el cáncer, incluidas las bacterias asociadas con el cáncer en ese nicho. En otras realizaciones, se administran los antibióticos después del tratamiento bacteriano. En algunas realizaciones, se administran los antibióticos después del tratamiento bacteriano para retirar el injerto.

Trastornos inmunitarios

[0204] En algunas realizaciones, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se refieren al tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno asociado a una respuesta inmunitaria patológica, tal como una enfermedad autoinmunitaria, una reacción alérgica y/o una enfermedad inflamatoria. En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno es una enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa). En algunas realizaciones, los métodos y composiciones descritas en el presente documento se refieren

al tratamiento o prevención de hipersensibilidad de tipo retardado, miocarditis autoinmune, granulomas, neuropatías periféricas, tiroiditis de Hashimoto, inflamación del colon, colitis, colitis microscópica, colitis colagenosa, colitis por derivación, colitis química, colitis isquémica, colitis indeterminada, colitis atípica.

[0205] Los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar cualquier sujeto que lo necesita. Tal como se usa en el presente documento, un "sujeto que lo necesite" incluye cualquier sujeto que tiene una enfermedad o trastorno asociado con una respuesta inmunitaria patológica (por ejemplo, una enfermedad inflamatoria del intestino), así como cualquier sujeto con una elevada probabilidad de adquirir tal enfermedad o trastorno.

[0206] Las composiciones descritas en el presente documento se pueden usar, por ejemplo, como una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento (reducción, parcial o completa, de los efectos adversos de) una enfermedad autoinmunitaria, tal como enfermedad inflamatoria del intestino crónica, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, síndrome de Muckle-Wells, artritis reumatoide, esclerosis múltiple o enfermedad de Hashimoto; una enfermedad alérgica, tal como alergia alimenticia, polenosis, o asma; una enfermedad infecciosa, tal como una infección por *Clostridium difficile*; una enfermedad inflamatoria tal como una enfermedad inflamatoria mediada por TNF (por ejemplo, una enfermedad inflamatoria del tracto gastrointestinal, tal como reservoritis, una afección inflamatoria cardiovascular, tal como aterosclerosis, o una enfermedad inflamatoria del pulmón, tal como enfermedad pulmonar obstructiva crónica); una

composición farmacéutica para suprimir el rechazo en el trasplante de órganos u otras situaciones en las que pueda ocurrir el rechazo tisular; un suplemento, alimento o bebida para mejorar las funciones inmunitarias; o un reactivo para suprimir la proliferación o función de células inmunitarias.

[0207] En algunas realizaciones, se proporcionan los métodos en el presente documento útiles para el tratamiento de inflamación. En determinadas realizaciones, la inflamación de cualquier tejido y órgano del cuerpo, incluida la inflamación musculoesquelética, la inflamación vascular, la inflamación neuronal, la inflamación del sistema digestivo, la inflamación ocular, la inflamación del sistema reproductivo y otras inflamaciones, como se discute a continuación.

[0208] Los trastornos inmunitarios del sistema musculoesquelético incluyen, entre otros, las condiciones que afectan las articulaciones esqueléticas, incluidas las articulaciones de la mano, muñeca, codo, hombro, mandíbula, columna vertebral, cuello, cadera, rodilla, tobillo, pie y condiciones que afectan tejidos que conectan los músculos a los huesos, como los tendones. Los ejemplos de tales trastornos inmunitarios, que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, artritis (incluyendo, por ejemplo, osteoartritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, infecciosa aguda y crónica artritis, artritis asociada a gota y pseudogota, y artritis idiopática juvenil), tendinitis, sinovitis, tenosinovitis, bursitis, fibrositis (fibromialgia), epicondilitis, miositis, osteítis (incluyendo, por ejemplo, enfermedad de Paget, osteítis pubis, osteítis fibrosa quística).

[0209] Los trastornos inmunitarios oculares se refieren a un trastorno inmunitario que afecta cualquier estructura del ojo, incluyendo los párpados. Los ejemplos de trastornos inmunitarios oculares que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, blefaritis, blefarocalasis, conjuntivitis, dacrioadenitis, queratitis, queratoconjuntivitis seca (ojo seco), escleritis, triquiasis, y uveítis

[0210] Los ejemplos de trastornos inmunitarios del sistema nervioso que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, encefalitis, síndrome de Guillain-Barré, meningitis, neuromiotonía, narcolepsia, esclerosis múltiple, mielitis y esquizofrenia. Los ejemplos de inflamación de la vasculatura del sistema linfático que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan, artrosclerosis, artritis, flebitis, vasculitis y linfangitis.

[0211] Los ejemplos de trastornos inmunitarios del sistema digestivo que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, colangitis, colecistitis, enteritis, enterocolitis, gastritis, gastroenteritis, enfermedad inflamatoria intestinal, ileítis y proctitis. Las enfermedades inflamatorias del intestino incluyen, por ejemplo, determinadas formas técnicas reconocidas de un grupo de estados relacionados. Se conocen varias formas principales de enfermedades inflamatorias del intestino, con enfermedad de Crohn (enfermedad intestinal regional, por ejemplo, formas

inactivas y activas) y colitis ulcerosa (por ejemplo, formas inactivas y activas) la más común de estos trastornos. Además, la enfermedad inflamatoria intestinal abarca el síndrome del intestino irritable, la colitis microscópica, la enteritis
5 linfocítica-plasmocítica, la enfermedad celíaca, la colitis colágena, la colitis linfocítica y la enterocolitis eosinofílica. Otras formas menos comunes de EII incluyen la colitis indeterminada, la colitis pseudomembranosa (colitis necrosante), enfermedad inflamatoria isquémica del intestino,
10 enfermedad de Behcet, sarcoidosis, esclerodermia, displasia asociada a la EII, masas o lesiones asociadas a la displasia, y colangitis esclerosante primaria.

[0212] Los ejemplos de trastornos inmunitarios del sistema reproductivo que pueden tratarse con los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero
15 no se limitan a, cervicitis, corioamnionitis, endometritis, epididimitis, onfalitis, ooforitis, orquitis, salpingitis, absceso tubo-ovárico, uretritis, vaginitis, vulvitis y vulvodinia.

[0213] Los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse para tratar los estados autoinmunes que tienen un componente inflamatorio. Tales estados incluyen, pero no se limitan a, alopecia diseminada aguda universalizada, enfermedad de Behcet, enfermedad de
25 Chagas, síndrome de fatiga crónica, disautonomía, encefalomielitis, espondilitis anquilosante, anemia aplásica, hidradenitis supurativa, hepatitis autoinmune, ooforitis autoinmune, enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, diabetes mellitus tipo 1, arteritis de células gigantes, síndrome de
30 goodpasture, enfermedad de Grave, Síndrome de Guillain-Barré,

5 enfermedad de Hashimoto, púrpura de Henoch-Schonlein, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso, colitis microscópica, poliarteritis microscópica, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de Muckle-Wells, esclerosis múltiple, miastenia gravis, síndrome de opsoclono mioclónico, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo, poliarteritis nodosa, polimialgia, artritis reumatoide, síndrome de Reiter, Síndrome de Sjogren, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, anemia hemolítica autoinmune cálida, cistitis intersticial, enfermedad de Lyme, morfea, psoriasis, sarcoidosis, esclerodermia, colitis ulcerosa, y vitíligo.

10 [0214] Los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse para tratar enfermedades de hipersensibilidad mediada por linfocitos T que tienen un componente inflamatorio. Tales condiciones incluyen, pero no se limitan a, hipersensibilidad de contacto, dermatitis de contacto (incluyendo la debida a hiedra venenosa), urticaria, alergias cutáneas, alergias respiratorias (fiebre del heno, rinitis alérgica, alergia al polvo doméstico) y enteropatía sensible al gluten (enfermedad celíaca).

20 [0215] 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, parotitis, percarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, neumonitis, prostatitis, pielonefritis y estomatitis, rechazo de trasplante (que involucra órganos como riñón, hígado, corazón, pulmón, páncreas

25 (por ejemplo, células de los islotes), médula ósea, córnea,

30

intestino delgado, aloinjertos de piel, homoinjertos de piel y xeninjertos de válvula cardíaca, enfermedad del suero y enfermedad de injerto contra huésped), pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda, síndrome de Sexary, hiperplasia suprarrenal congénita, tiroiditis no supurativa, hipercalcemia asociada con cáncer, pénfigo, dermatitis ampollosa herpetiforme, eritema grave multiforme, dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, rinitis alérgica estacional o perenne, asma bronquial, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, reacciones de hipersensibilidad a fármacos, conjuntivitis alérgica, queratitis, herpes zoster oftálmico, iritis y oiridociclitis, coriorretinitis, neuritis óptica, sarcoidosis sintomática, quimioterapia pulmonar tuberculosa adulta pulmonar fulminante o diseminada, tuberculosis idiopática adulta, trombocitopenia secundaria en adultos, anemia hemolítica adquirida (autoinmune), leucemia y linfomas en adultos, leucemia aguda de la infancia, enteritis regional, vasculitis autoinmune, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rechazo de trasplante de órganos sólidos, septicemia. Los tratamientos preferidos incluyen tratamiento de rechazo de trasplante, artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, diabetes tipo 1, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y inflamación que acompaña a estados infecciosos (por ejemplo, septicemia).

[0216] Los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse para tratar trastornos metabólicos y síndromes metabólicos. Tales estados incluyen,

pero no se limitan a, diabetes tipo II, encefalopatía, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Krabbe, galactosemia, fenilcetonuria (PKU) y enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce.

5 **[0217]** Los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse para tratar enfermedades neurodegenerativas y neurológicas. Tales afecciones incluyen, peor sin limitación, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad priónica, enfermedad de Huntington,
10 enfermedades de neuronas motoras (ENM), ataxia espinocerebelar, atrofia muscular espinal, distonia, hipertensión intracraneal idiopática, epilepsia, enfermedad del sistema nervioso, enfermedad del sistema nervioso central, trastornos del movimiento, esclerosis múltiple, encefalopatía,
15 neuropatía periférica y disfunción cognitiva postoperatoria.

Cáncer

[0218] En algunas realizaciones, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se refieren al tratamiento del cáncer. En algunas realizaciones, cualquier
20 cáncer puede tratarse usando los métodos descritos en el presente documento. Los ejemplos de cánceres que pueden tratarse por métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, células cancerosas de la vejiga, sangre, hueso, médula ósea, cerebro, seno, colon,
25 esófago, gastrointestinal, encía, cabeza, riñón, hígado, pulmón, nasofaringe, cuello, ovario, próstata, piel, estómago, testículos, lengua, o útero. Además, el cáncer puede ser específicamente del siguiente tipo histológico, aunque no se limita a estos: neoplasia, maligno; carcinoma; carcinoma,
30 indiferenciado; carcinoma de células fusiformes y gigantes;

carcinoma de células pequeñas; carcinoma papilar; carcinoma de células escamosas; linfopitelial carcinoma; carcinoma de células basales; carcinoma de pilomatriz; carcinoma de células de transición; carcinoma papilar de células de transición; adenocarcinoma; gastrinoma, tumor maligno; colangiocarcinoma; carcinoma hepatocelular; carcinoma hepatocelular combinado y colangiocarcinoma; adenocarcinoma trabecular; carcinoma adenoide quístico; adenocarcinoma en pólipo adenomatoso; adenocarcinoma, poliposis coli familiar; carcinoma sólido; tumor carcinoide, maligno; adenocarcinoma bronquioloalveolar; adenocarcinoma papilar; carcinoma cromóforo; carcinoma acidófilo; adenocarcinoma oxifílico; carcinoma basófilo; adenocarcinoma de células claras; carcinoma de células granulares; adenocarcinoma folicular; adenocarcinoma papilar y folicular; carcinoma esclerosante no encapsulante; carcinoma cortical suprarrenal; carcinoma endometrioide; carcinoma de apéndice de la piel; adenocarcinoma apocrino; adenocarcinoma sebáceo; adenocarcinoma ceruminoso; carcinoma mucoepidermoide; cistadenocarcinoma; cistadenocarcinoma papilar; cistadenocarcinoma seroso papilar; cistadenocarcinoma mucinoso; adenocarcinoma mucinoso; carcinoma de células en anillo de sello; carcinoma de conducto infiltrante; carcinoma medular; carcinoma lobular; carcinoma inflamatorio; enfermedad de paget, mamario; carcinoma de células acinares; carcinoma adenoescamoso; adenocarcinoma con metaplasia escamosa; timoma maligno; tumor del estroma ovárico, maligno; tecomoma maligno; tumor de células granulosa, maligno; y roblastoma maligno; carcinoma de células de sertoli; tumor de células de Leydig, maligno; tumor de células lipídicas, maligno; paraganglioma, maligno; paraganglioma extramamario, maligno; feocromocitoma;

glomangiosarcoma; melanoma maligno; melanoma amelanótico;
melanoma de extensión superficial; melanoma maligno en nevo
gigante pigmentado; melanoma de células epitelioides; nevo
azul, maligno; sarcoma; fibrosarcoma; histiocitoma fibroso,
5 maligno; mixosarcoma; liposarcoma; leiomiosarcoma;
rabdomiosarcoma; rabdomiosarcoma embrionario; rabdomiosarcoma
alveolar; sarcoma del estroma; tumor mixto maligno; tumor mixto
mulleriano; nefroblastoma; hepatoblastoma; carcinosarcoma;
mesenquimoma, maligno; tumor de Brenner, maligno; tumor filodes
10 maligno; sarcoma sinovial; mesotelioma, maligno; disgerminoma;
carcinoma embrionario; teratoma maligno; Struma ovarii,
maligno; coriocarcinoma; mesonefoma, maligno;
hemangiosarcoma; hemangioendotelioma maligno; sarcoma de
Kaposi; hemangiopericitoma maligno; linfangiosarcoma;
15 osteosarcoma; osteosarcoma yuxtacortical; condrosarcoma;
condroblastoma maligno; condrosarcoma mesenquimatoso; tumor de
células gigantes de hueso; sarcoma de Ewing; tumor
odontogénico, maligno; odontosarcoma ameloblástico;
ameloblastoma, maligno; fibrosarcoma ameloblástico; pinealoma
20 maligno; chordoma; glioma, maligno; ependimoma; astrocitoma;
astrocitoma protoplasmático; astrocitoma fibrilar;
astroblastoma; glioblastoma; oligodendroglioma;
oligodendroblastoma; neuroectodérmico primitivo; sarcoma
cerebeloso; ganglioneuroblastoma; neuroblastoma;
25 retinoblastoma; tumor neurogénico olfativo; meningioma
maligno; neurofibrosarcoma; neurilemmoma maligno; tumor de
células granulares, maligno; linfoma maligno; enfermedad de
Hodgkin; Linfoma de Hodgkin; paragranuloma; linfoma maligno,
linfocítico pequeño; linfoma maligno, de células grandes,
30 difuso; linfoma maligno folicular; micosis fungoide; otros

linfomas no Hodgkin especificados; histiocitosis maligna; mieloma múltiple; sarcoma de mastocitos; enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado; leucemia; leucemia linfoide; leucemia de células plasmáticas; eritroleucemia
5 leucemia de células de linfosarcoma; leucemia mieloide; leucemia basofílica; leucemia eosinofílica; leucemia monocítica; leucemia de mastocitos; leucemia megacarioblástica; sarcoma mieloide; plasmacitoma, cáncer colorrectal, cáncer rectal, y leucemia de células pilosas.

10 **[0219]** 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 variables progresivas de los órganos/sistemas hematopoyéticos y normalmente se caracterizan
15 por una proliferación distorsionada y el desarrollo de leucocitos y sus precursores en la sangre y la médula ósea. Los ejemplos no limitativos de enfermedades de leucemia incluyen, leucemia no linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia granulocítica
20 crónica, leucemia promielocítica aguda, leucemia de linfocitos T del adulto, leucemia aleucémica, leucemia leucocitémica, leucemia basófila, leucemia de células blásticas, leucemia bovina, leucemia bovina, leucemia crónica, leucemia bovina leucemia embrionaria, leucemia eosinofílica, leucemia de
25 Gross, leucemia de células de Rieder, leucemia de Schilling, leucemia de células madre, leucemia subleucémica, leucemia indiferenciada, leucemia de células pilosas, leucemia hemoblástica, leucemia hemocitoblástica, leucemia histiocítica, leucemia de células madre, leucemia monocítica
30 aguda, leucemia leucopénica, leucemia linfática, leucemia

linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia linfógena, leucemia linfoide, leucemia de células de linfosarcoma, leucemia de mastocitos, leucemia megacariocítica, leucemia micromieloblástica, leucemia monocítica, leucemia mieloblástica, leucemia mielocítica, leucemia granulocítica mieloide, leucemia mielomonocítica, leucemia de Naegeli, leucemia de células plasmáticas, leucemia plasmacítica, y leucemia promielocítica.

[0220] En algunas realizaciones, los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento se refieren al tratamiento de una carcinoma. El término "carcinoma" se refiere a un crecimiento maligno compuesto por células epiteliales que tienden a infiltrarse en los tejidos circundantes, y/o resisten señales de muerte celular fisiológicas y no fisiológicas y dan lugar a metástasis. Los tipos de carcinomas ejemplares no limitativos incluyen, carcinoma acinar, carcinoma mucinoso, carcinoma adenoide quístico, carcinoma adenoide quístico, carcinoma adenomatoso, carcinoma de corteza suprarrenal, carcinoma alveolar, carcinoma de células alveolares, carcinoma basocelular, carcinoma basocelular, carcinoma basaloide, carcinoma basoescamoso, carcinoma bronquioalveolar, carcinoma bronquiolar, carcinoma broncogénico, carcinoma cerebriforme, carcinoma colangiocelular, carcinoma coriónico, carcinoma coloide, comedocarcinoma, carcinoma de cuerpo, carcinoma cribiforme, carcinoma en cuirasse, carcinoma cutaneum, carcinoma cilíndrico, carcinoma de células cilíndricas, carcinoma de conducto, carcinoma durum, carcinoma embrionario, carcinoma encefaloide, carcinoma epiennoide, adenoides epiteliales de carcinoma, carcinoma exofítico, carcinoma ex

ulceras, carcinoma fibroso, carcinoma gelatiniforme, carcinoma
gelatinoso, carcinoma de células gigantes, carcinoma de células
en anillo de sello, carcinoma simple, carcinoma de células
pequeñas, carcinoma solanoide, carcinoma de células
5 esferoidales, carcinoma de células fusiformes, carcinoma
esponjoso, carcinoma escamoso, carcinoma de células escamosas,
carcinoma de cuerdas, carcinoma telangiectásico, carcinoma
telangiectodo, carcinoma de células de transición, carcinoma
tuberoso, carcinoma tuberoso, carcinoma verrugoso, carcinoma
10 velloso, carcinoma gigantocelular, carcinoma glandular,
carcinoma de células granulosas, carcinoma de matriz capilar,
carcinoma hematoide, carcinoma hepatocelular, Carcinoma de
células de Hurthle, carcinoma hialino, carcinoma
hipernefroide, carcinoma embrionario infantil, carcinoma in
15 situ, carcinoma intraepidérmico, carcinoma intraepitelial,
Carcinoma de Krompecher, carcinoma de células Kulchitzky,
carcinoma de células grandes, carcinoma lenticular, carcinoma
lenticular, carcinoma lipomatoso, carcinoma linfoepitelial,
carcinoma medular, carcinoma medular, carcinoma melanótico,
20 carcinoma molle, carcinoma mucinoso, carcinoma mucipario,
carcinoma mucocelular, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma de
la mucosa, carcinoma mucoso, mixomas de carcinoma, carcinoma
nasofaríngeo, carcinoma de células de avena, carcinoma
osificante, carcinoma osteoide, carcinoma papilar, carcinoma
25 periportal, carcinoma preinvasivo, carcinoma de células
espinosas, carcinoma pultaceo, carcinoma de células renales de
riñón, carcinoma de células de reserva, sarcomatodes de
carcinoma, carcinoma de Schneider, carcinoma escirroso,
carcinoma de células de Merkel, carcinoma de glándulas
30 salivales, y carcinoma de escroto.

[0221] En algunas realizaciones, los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento se refieren al tratamiento de un sarcoma. El término "sarcoma" en general se refiere a un tumor que está compuesto de una sustancia como el tejido conectivo embrionario y generalmente está compuesto de células compactas incrustadas en una sustancia fibrilar, heterogénea u homogénea. Los sarcomas incluyen, pero no se limitan a, condrosarcoma, fibrosarcoma, linfosarcoma, melanosarcoma, mixosarcoma, osteosarcoma, sarcoma endometrial, sarcoma del estroma, sarcoma de Ewing, sarcoma fascial, sarcoma fibroblástico, sarcoma de células gigantes, sarcoma de Abemethy, sarcoma adiposo, liposarcoma, sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma ameloblástico, sarcoma botrioide, sarcoma de cloroma, carcinoma corio, sarcoma embrionario, sarcoma de tumor de Wilms, sarcoma granulocítico, sarcoma de Hodgkin, sarcoma hemorrágico pigmentado idiopático múltiple, sarcoma inmunoblástico de células B, linfoma, sarcoma inmunoblástico de linfocitos T, sarcoma de Jensen, sarcoma de Kaposi, sarcoma de células de Kupffer, angiosarcoma, leucosarcoma, sarcoma de mesenquimoma maligno, sarcoma parosteal, sarcoma reticulocítico, sarcoma de Rous, sarcoma seroquístico, sarcoma sinovial y sarcoma telangiectático.

[0222] Las neoplasias a modo de ejemplo adicionales que pueden tratarse usando los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen enfermedad de Hodgkin, linfoma de no Hodgkin, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, rabdomiosarcoma, trombocitosis primaria, macroglobulinemia primaria, tumores de pulmón de células pequeñas, tumores cerebrales primarios, cáncer de estómago,

cáncer de colon, insulánoma pancreático maligno, carcinoide maligno, lesiones cutáneas premalignas, cáncer testicular, linfomas, tiroides cáncer, neuroblastoma, cáncer de esófago, cáncer del tracto genitourinario, hipercalcemia maligna, 5
cáncer cervical, cáncer de endometrio, y cáncer cortical suprarrenal.

[0223] En algunas realizaciones, el cáncer tratado es un melanoma. El término "melanoma" se toma para significar un tumor que surge del sistema melanocítico de la piel y otros 10
órganos. Los ejemplos no limitativos de melanomas son melanoma Harding-Passey, melanoma juvenil, melanoma lentigo maligno, melanoma maligno, melanoma acral-lentiginoso, melanoma amelanótico, melanoma juvenil benigno, melanoma de Cloudman, melanoma S91, melanoma nodular melanoma subgénico, y melanoma 15
de extensión superficial.

[0224] Las categorías particulares de tumores que pueden tratarse usando métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen trastornos linfoproliferativos, 20
cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de huesos, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer del sistema nervioso central, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer de piel, cáncer de riñón, así como 25
metástasis de todo lo anterior. Los tipos particulares de tumores incluyen carcinoma hepatocelular, hepatoma, hepatoblastoma, rabdomiosarcoma, carcinoma esofágico, carcinoma de tiroides, ganglioblastoma, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, 30
cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, tumor de Ewing,

leiomiosarcoma, rhabdotheliosarcoma, carcinoma ductal invasivo, adenocarcinoma papilar, melanoma, carcinoma de células escamosas pulmonares, carcinoma de células basales, adenocarcinoma (bien diferenciado, moderadamente diferenciado, poco diferenciado o indiferenciado), carcinoma bronquioloalveolar, carcinoma de células renales, hipernefoma, adenocarcinoma hipernefroide, carcinoma de vías biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms tumor testicular, carcinoma de pulmón incluyendo células pequeñas, carcinoma de pulmón no microcítico y de células grandes, carcinoma de vejiga, glioma, astrocioma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, retinoblastoma, neuroblastoma, carcinoma de colon, carcinoma rectal, neoplasias hematopoyéticas que incluyen todos los tipos de leucemia y linfoma, incluidos: leucemia mielógena aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de mastocitos, mieloma múltiple, linfoma mieloide, linfoma de Hodgkin, y linfoma no Hodgkin.

[0225] Los cánceres tratados en determinadas realizaciones también incluyen lesiones precancerosas, por ejemplo, queratosis actínica (queratosis solar), lunares (nevos displásicos), quelitis acitínica (labio de granjero), cuernos cutáneos, esófago de Barrett, gastritis atrófica, disqueratosis congénita, disfagia sideropénica, liquen plano, fibrosis submucosa oral, actínica (solar) elastosis y displasia cervical.

[0226] Los cánceres tratados en algunas realizaciones incluyen tumores no cancerosos o benignos, por ejemplo, de origen endodérmico, ectodérmico o mesenquimatoso, que

incluyen, entre otros, colangioma, pólipo colónico, adenoma, papiloma, cistadenoma, adenoma de células hepáticas, mola hidatidiforme, adenoma tubular renal, papiloma de células escamosas, pólipo gástrico, hemangioma, osteoma, condroma, lipoma, fibroma, linfangioma, leiomioma, rabdomioma, astrocitoma, nevo, meningioma y ganglioneuroma.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Inmunomodulación de bacterias comensales humanas en un modelo de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH

[0227] La hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) es un modelo animal de dermatitis atópica (o dermatitis alérgica de contacto), según lo revisado por 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 una variedad de cepas de ratones y de ratas usando diversos haptenos o antígenos, por ejemplo, usando un antígeno emulsionado con un adyuvante. Se caracteriza DTH por la sensibilización así como una reacción mediada por linfocitos T específicos de antígeno que da como resultado eritema, edema e infiltración celular, especialmente infiltración de células presentadoras de antígeno (APC), eosinófilos, linfocitos T CD4+ activados y células Th2 que expresan citocinas.

[0228] Las formulaciones de prueba se prepararon para el modelo de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH. El modelo DTH proporciona un mecanismo in vivo para estudiar la respuesta inmunitaria mediada por células y la inflamación resultante, después de la exposición a un antígeno específico

al que los ratones han sido sensibilizados. Se han usado varias variaciones del modelo DTH y se conocen bien en la técnica. (Irving C. Allen (ed.). *Mouse Models of Innate Immunity: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology. Vol. 1031, DOI 10.1007/978-1-62703-481-4_13, Springer Science + Business Media, LLC 2013). Por ejemplo, la hemocianina de lapa californiana (KLH) y el adyuvante completo de Freund (CFA) se preparan de forma reciente el día de la inmunización (día 0). Con este fin, se pesan 8 mg de KLH en polvo y se resuspenden completamente en 16 ml de solución salina. Se prepara una emulsión mezclando la KLH/solución salina con un mismo volumen de solución de CFA (por ejemplo, 10 ml de KLH/solución salina + 10 ml de solución de CFA) usando jeringas y un conector de Luer lock. La KLH y el CFA se mezclan enérgicamente durante varios minutos para formar una emulsión de color blanco para obtener la máxima estabilidad. Se realiza una prueba de caída para verificar si se obtiene una emulsión homogénea, la mezcla continúa hasta que una gota intacta permanece visible en el agua.

[0229] El día 0, ratones hembra C57Bl/6J, aproximadamente 7 semanas de edad, se prepararon con antígeno KLH en CFA mediante inmunización subcutánea (4 sitios, 50 μ l por sitio).

[0230] La dexametasona, un corticoesteroide, es un antiinflamatorio conocido que mejora las reacciones de DTH en ratones, y sirve como control positivo para suprimir la inflamación en este modelo (Taube and Carlsten, Action of dexamethasone in the suppression of delayed-type hypersensitivity in reconstituted SCID mice. *Inflamm Res.* 2000. 49(10): 548-52). Para el grupo de control positivo, se preparó

una solución madre de 17 mg/ml de dexametasona el día 0 diluyendo 6.8 mg de dexametasona en 400 μ l de etanol al 96%. Para cada día de dosificación, se prepara una solución de trabajo diluyendo el stock de solución 100x en PBS estéril para
5 obtener una concentración final de 0.17 mg/ml en un vial de tabique para la dosificación intraperitoneal. Los ratones tratados con dexametasona recibieron 100 μ l de dexametasona i.p. (5 ml/kg de una solución de 0.17 mg/ml). La sacarosa congelada sirvió como control negativo (vehículo). Las cepas
10 de *Veillonella* A, B y C se dosificaron a 1×10^{10} UFC p.o. diariamente. La dexametasona (control positivo), el vehículo (control negativo) y *Bifidobacterium animalis lactis* (10 mg en polvo) se dosificaron diariamente.

[0231] El día 8, a los ratones se les expuso por vía
15 intradérmica (i.d.) con 10 μ g de KLH en solución salina (en un volumen de 10 μ l) en la oreja izquierda. Se midieron las respuestas inflamatorias usando los métodos conocidos en la técnica. El espesor del pabellón auditivo se midió 24 horas
20 después de la exposición al antígeno (**Fig. 1**). Tal como se determina mediante el espesor de la oreja, las cepas de *Veillonella* A, B y C fueron eficaces en la supresión de la inflamación en comparación con los ratones que recibieron solo
vehículo (comparable con el tratamiento con dexametasona).

[0232] La eficacia de las cepas de *Veillonella* se puede
25 estudiar adicionalmente usando tiempos variados y dosis variadas. Por ejemplo, el tratamiento con una composición bacteriana de *Veillonella* se puede iniciar en algún momento, bien alrededor del momento de sensibilización o alrededor del
momento de exposición a DTH. Por ejemplo, se puede administrar
30 *Veillonella* (1×10^9 UFC por ratón por día) en el mismo momento

que las inyecciones subcutáneas (día 0), o se puede administrar antes de o después de la inyección intradérmica. Las cepas de *Veillonella* (por ejemplo, la cepa A, la cepa B o la cepa C) se pueden administrar a dosis variadas y a intervalos definidos, y en combinaciones variadas. Por ejemplo, a algunos ratones se les inyecta por vía intravenosa la cepa A de *Veillonella* a un intervalo de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Algunos ratones recibieron una mezcla de la cepa A y/o la cepa B y/o la cepa C. Mientras que algunos ratones reciben una cepa de *Veillonella* a través de la inyección i.v., otros ratones pueden recibir una cepa de *Veillonella* a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica, administración tópica, inyección intradérmica (i.d.); u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir una cepa de *Veillonella* todos los días (por ejemplo, comenzando en el día 0), mientras que otros pueden recibir una cepa de *Veillonella* en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

[0233] Por ejemplo, los ratones se sensibilizaron a KLH tal como se describe anteriormente, y los grupos recibieron *Veillonella* viva o irradiada (25 kGy). Los ratones recibieron vehículo, dexametasona, *Veillonella* cepa B viable (5.09×10^9), *Veillonella* cepa B irradiada (5.09×10^9 , 25 kGy), *Veillonella* cepa C viable (5.38×10^9), *Veillonella* cepa C irradiada (5.38×10^9 , 25 kGy). Los ratones recibieron las

5 dosis en los días 1-9, y se expusieron el día 8 con mediciones en la oreja tomadas el día 9 (24 horas) y en el día 10 (48 horas). La *Veillonella* cepa B viva y la irradiada son eficaces en la reducción de la hinchazón de la oreja tanto a las 24 como a las 48 horas en comparación con el vehículo (control negativo) (**Fig. 2** y **Fig. 3**, respectivamente). La cepa B irradiada de *Veillonella* fue más eficaz que la cepa B no irradiada, y la cepa B irradiada de *Veillonella* fue incluso más eficaz que la dexametasona en la inhibición de la hinchazón de la oreja. Los grupos de *Veillonella* cepa C viable e irradiada demostraron su eficacia en los puntos temporales de 24 y 48 horas. Al contrario que en la cepa B, la irradiación de la cepa C de *Veillonella* ni mejoró ni redujo su eficacia.

15 **[0234]** Se pueden estudiar intervalos de dosificación de células y/o de radiación alternativos. Por ejemplo, algunos grupos de ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas en una administración. Como alternativa, algunas células bacterianas se pueden irradiar a dosis de radiación más altas o más bajas, por ejemplo, entre 15 kGy o 35 kGy. La administración de la composición de células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir administración por sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., inyección, i.d., administración tópica o vía nasal.

25 **[0235]** Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorio(s) (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia TNF u otro tratamiento) y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos puntos temporales y a dosis eficaces.

[0236] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos.

[0237] Los animales de estudio pueden sacrificarse por desangrado del plexo orbital bajo anestesia con CO₂/O₂, seguido de dislocación cervical el día 10. Para la preparación del suero, las muestras de sangre se dejan coagular antes de centrifugar. Los sueros se transfieren a tubos limpios, cada animal en un tubo separado. Después del desangrado, de todos los animales se recogen ambas orejas (cada oreja en un vial separado), el bazo, los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN), todo el intestino delgado y el colon en crioviales, se congelan y almacenan a <-70 °C.

[0238] Los tejidos se pueden disociar 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 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 paninmunes CD45, marcadores de linfocitos T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, TNF α ,

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 inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas CD45 + obtenidas ex vivo. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en diversas secciones de tejido para medir linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control.

Ejemplo 2: Una evaluación de los artículos de prueba en la modulación de la colitis inducida por DSS en ratones C57BL/6

[0239] La colitis inducida por sulfato de dextrano sódico (DSS) es un modelo animal de colitis bien estudiado, según lo revisado por Randhawa 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. 4 de feb de 2014; 104: Unidad 15.25). En este modelo, los ratones son tratados con DSS en agua potable, dando como resultado diarrea y pérdida de peso.

[0240] Para examinar la eficacia de *Veillonella* en colitis inducida por DSS, los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C, y/u otra cepa de *Veillonella*. Los grupos de ratones se tratan 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, se indujo colitis en ratones por exposición a agua potable tratada con DSS al 3% desde el Día 0 hasta el Día 5. Un grupo no recibe

DSS y sirve como controles sin exposición previa. Los animales reciben dosis con vehículo de sacarosa (control negativo), cepa bacteriana (1×10^9 UFC por ratón por día), o control positivo anti-p40 (administrado por i.p. en los días 0, 3, 7 y 10).
5 Todos los animales se pesan diariamente.

[0241] En otros estudios, el tratamiento con una cepa bacteriana (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1) se puede iniciar en algún punto, bien el día 1 de la administración de DSS o en algún momento después. Por
10 ejemplo, se puede administrar *Veillonella* al mismo tiempo de la iniciación de DSS (día 1) o se puede administrar tras los primeros síntomas de enfermedad (por ejemplo, pérdida de peso o diarrea), o durante las etapas de colitis severa. Los ratones pueden observarse diariamente para determinar el peso, la
15 morbilidad, la supervivencia, la presencia de diarrea y/o heces con sangre.

[0242] La cepa bacteriana se administra en dosis variadas, intervalos variados y/o vías de administración variadas, y/o en combinación con otras cepas de *Veillonella* u
20 otras especies. Por ejemplo, a algunos ratones se les inyecta por vía intravenosa *Veillonella* a una dosis de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Mientras que algunos ratones reciben las bacterias a través de la inyección i.v., otros ratones pueden recibir bacterias a través de la inyección
25 intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la cepa bacteriana todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana en
30 intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una

vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse
5 recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

[0243] Se puede analizar la eficacia de las composiciones bacterianas que contienen la cepa bacteriana en un modelo de colitis inducida por DSS en ratón, bien solo o en
10 combinación con células bacterianas completas, con o sin la adición de otros agentes antiinflamatorios.

[0244] 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
15 de la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana, la administración de las células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir administración por sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., o administración por vía nasal.

[0245] Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorio(s) adicional(es) (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia de TNF u otro
20 tratamiento), y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos puntos temporales y a dosis eficaces.

[0246] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0
25 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento

o en pocos días antes del tratamiento. Algunos ratones reciben DSS sin recibir antibióticos de antemano.

5 **[0247]** En diversos puntos de tiempo, los ratones experimentaron endoscopia por video usando un endoscopio de animales pequeños (Karl Storz Endoskope, Alemania) bajo anestesia con isoflurano. Se registran imágenes fijas y videos para evaluar la extensión de la colitis y la respuesta al tratamiento. Se puntúa la colitis usando criterios conocidos en la técnica. Se recoge el material fecal para estudio.

10 **[0248]** Pueden extirparse el tracto gastrointestinal (GI), los ganglios linfáticos y/u otros tejidos para un análisis citológico ex vivo histológico, de citocinas y de flujo usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los tejidos se recogen y se pueden disociar usando enzimas de
15 disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células se tiñen para el 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-
20 CD4, y anti-CD103. Otros marcadores que pueden analizarse incluyen el marcador de células paninmunes CD45, marcadores de linfocitos T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además de la inmunofenotipificación, se analizan
25 las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 puede llevarse a cabo en
30 células inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido,

y/o en células inmunes purificadas infiltradas del tubo GI CD45+ obtenidas *ex vivo*. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en diversas secciones de tejido para medir linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control.

[0249] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden re-exponerse a un desencadenante de la enfermedad. Se analizan los ratones para determinar la susceptibilidad a la gravedad de colitis después del re-exposición.

[0250] Después del sacrificio, se pueden recoger el colon, el intestino delgado, el bazo y los ganglios linfáticos mesentéricos de todos los animales, y se puede extraer sangre para su análisis.

Ejemplo 3: Un modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE)

[0251] La EAE es un modelo animal ya estudiado de esclerosis múltiple, según lo revisado por 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 una variedad de cepas de ratas y ratones usando diferentes péptidos asociados con mielina, mediante la transferencia adoptiva de linfocitos T encefalitogénicos activados, o el uso de ratones transgénicos TCR susceptibles a EAE, como se discute 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).

[0252] Se prueba la eficacia de las composiciones bacterianas que contienen *Veillonella* descritas en el presente documento en el modelo de EAE en roedores, bien solo o en combinación con células bacterianas completas, con o sin la adición de otros tratamientos antiinflamatorios. Por ejemplo, se obtienen ratones C57Bl/6 hembra de 6-8 semanas de edad de Taconic (Germantown, NY). A los grupos de ratones se les administra dos inyecciones subcutáneas (s.c.) en dos sitios de la espalda (más superior y más inferior) de 0.1 ml de glucoproteína de oligodendrocito de mielina 35-55 (MOG35-55; 100 ug por inyección; 200 ug por ratón (total 0.2 ml por ratón)), emulsionado en adyuvante completo de Freund (CFA, 2-5 mg de mycobacterium tuberculosis muertas H37R/ml de emulsión). Aproximadamente 1-2 horas después de lo anterior, se inyectan por vía intraperitoneal (i.p.) a los ratones con 200 ng de toxina de tos ferina (PTx) en 0.1 ml de PBS (2 ug/ml). Se administra una inyección IP adicional de PTx el día 2. Como alternativa, se usa una cantidad apropiada de un péptido de mielina alternativo (por ejemplo, proteína de proteolípido (PLP)) para inducir EAE. Algunos animales sirven como controles sin tratar. La gravedad de EAE se evalúa y se asigna un puntuación de discapacidad diariamente a partir del día 4 según los métodos conocidos en la técnica (Mangalam *et al.* 2012).

[0253] El tratamiento con *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C, y/u otra cepa de *Veillonella* se inicia en algún punto, bien alrededor del momento de inmunización o tras la inmunización de EAE. Por ejemplo, la composición bacteriana que contiene la cepa bacteriana se puede administrar en el mismo momento que la inmunización (día 1) o se puede administrar tras los primeros

síntomas de discapacidad (por ejemplo, cola flácida) o durante la EAE grave. Las composiciones bacterianas que contienen la cepa bacteriana se administran en dosis variadas y en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones son inyectados por vía intravenosa con dosis eficaces de la cepa bacteriana. Por ejemplo, los ratones pueden recibir entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Mientras que algunos ratones reciben la cepa bacteriana a través de inyección i.v., otros ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la cepa bacteriana cada día (por ejemplo, comenzando en el día 1), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

[0254] 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 la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana (por ejemplo, una cepa de bacterias enumeradas en la Tabla 1) la administración de células bacterianas puede variar según la vía, la dosis y la pauta de administración. Esto puede incluir sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.), o administración por vía nasal.

[0255] Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorio(s) adicional(es) o agente(s) terapéutico(s) de EAE (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia TNF, Vitamina D u otro tratamiento) y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos punto temporales y a dosis eficaces.

[0256] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos.

[0257] En diversos puntos de tiempo, se sacrifican los ratones y pueden extirparse los sitios de inflamación (por ejemplo, cerebro y médula espinal), los ganglios linfáticos u otros tejidos para un análisis citológico ex vivo histológico, de citocinas y/o de flujo usando métodos conocidos en la técnica. 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 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 paninmunes CD45, marcadores de linfocitos T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además de la inmunofenotipificación, se analizan

las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 con células inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes infiltradas del sistema nervioso central (SNC) CD45+ purificadas obtenidas ex vivo. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en diversas secciones de tejido para medir linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control.

[0258] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden re-exponerse a un desencadenante de la enfermedad (por ejemplo, linfocitos T encefalitogénicos activados o inyección de nuevo de péptidos inductores de EAE). Se analizan los ratones para determinar la susceptibilidad a la enfermedad y la gravedad de EAE después del re-exposición.

Ejemplo 4: Un modelo de ratón de artritis inducida por colágeno (CIA)

[0259] La artritis inducida por colágeno (CIA) es un modelo animal comúnmente utilizado para estudiar la artritis reumatoide (AR), según lo descrito por Caplazi *et al.* (Mouse models of rheumatoid arthritis. Veterinary Pathology. 1 de sept. de 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. 20 de oct de 2015; 5(20): e1626).

[0260] Entre otras versiones del modelo de roedor de la CIA, un modelo implica inmunizar ratones HLA-DQ8 Tg con

colágeno de pollo tipo II como se describe 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 del polluelo CII ha
5 sido descrita por Taneja *et al.* (Arthritis Rheum., 2007. 56: 69-78). Los ratones se controlan por la aparición de la enfermedad de CIA y la progresión tras la inmunización, y la gravedad de la enfermedad se evalúa y se "gradúa" tal como se describe por Wooley, J. Exp. Med. 1981. 154: 688-700.

10 **[0261]** Los ratones se inmunizan para la inducción de CIA y se separan en varios grupos de tratamiento. Se analiza la eficacia en CIA de las composiciones bacterianas que contienen cepas bacterianas, bien solas o en combinación con células bacterianas completas, con o sin la adición de otros
15 tratamientos antiinflamatorios.

[0262] El tratamiento con la composición bacteriana que contiene *Veillonella* se inició bien alrededor del momento de la inmunización con colágeno o tras la inmunización. Por ejemplo, en algunos grupos, la cepa bacteriana se puede
20 administrar al mismo tiempo que la inmunización (día 1), o la cepa bacteriana se puede administrar tras los primeros síntomas de enfermedad, o tras la aparición de síntomas graves. La cepa bacteriana se administra a dosis variadas y a intervalos definidos.

25 **[0263]** Por ejemplo, a algunos ratones se les inyecta por vía intravenosa *Veillonella* a una dosis de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Mientras que algunos ratones reciben la cepa a través de inyección i.v., otros grupos de ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través
30 de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea

(s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la cepa bacteriana todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

[0264] 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 la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana, la administración de las células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.), inyección, intradérmica (i.d.) o administración por vía nasal.

[0265] Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorio(s) adicional(es) o agente(s) terapéutico(s) de CIA (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia TNF, Vitamina D u otro tratamiento) y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos punto temporales y a dosis eficaces.

[0266] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el

tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos.

[0267] En diversos puntos de tiempo, se obtienen muestras de suero para evaluar los niveles de anticuerpos IgG CII anti-polluelos 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). Además, se sacrifican algunos ratones y se pueden extirparse sitios de inflamación (por ejemplo, sinovio), ganglios linfáticos u otros tejidos para el análisis histológico *ex vivo*, de citocinas y/o de citometría de flujo utilizando métodos conocidos en la técnica. Se analizan el líquido sinovial o sinovia 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 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 paninmunes CD45, marcadores de linfocitos T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que

incluyen pero no se limitan a, 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 inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas de sinovia CD45 + obtenidas *ex vivo*. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en diversas secciones de tejido para medir linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control.

[0268] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden re-exponerse a un desencadenante de la enfermedad (por ejemplo, reinyección activada con péptidos inductores de CIA). Se analizan los ratones para determinar la susceptibilidad a la enfermedad y la gravedad de CIA después del re-exposición.

Ejemplo 5: Un modelo de ratón de diabetes tipo 1 (T1D)

[0269] La diabetes tipo 1 (T1D) es una enfermedad autoinmunitaria en la que el sistema inmunitario se dirige a los islotes de Langerhans del páncreas, destruyendo de este modo la capacidad del cuerpo para producir insulina.

[0270] Hay diversos modelos de modelos animales de T1D, según la revisión de 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*. jun de 2012; 166(3): 877-894. Existen modelos para T1D inducida químicamente, T1D inducida por patógenos, así como modelos en los que los ratones desarrollan espontáneamente T1D.

[0271] Se probó a eficacia de una cepa de *Veillonella* descrita en el presente documento en un modelo de T1D en ratón, bien sola o en combinación con otras cepas, con o sin la adición de otros tratamientos antiinflamatorios.

5 [0272] En función del método de inducción de T1D y/o de si el desarrollo de la T1D es espontáneo, el tratamiento con la cepa bacteriana se inicia en algún punto, bien alrededor del momento de inducción o tras la inducción, o antes de la aparición (o tras la aparición) de la T1D de aparición
10 espontánea. La cepa bacteriana se administra a dosis variadas y a intervalos definidos. Por ejemplo, a algunos ratones se les inyectó *Veillonella* por vía intravenosa a una dosis de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de cepa bacteriana por ratón.
15 Mientras que algunos ratones reciben la cepa bacteriana a través de inyección i.v., otros ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través de inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la
20 cepa bacteriana todos los días, mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células
25 bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

30 [0273] 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 la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana, la administración de las células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir
5 administración por sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., o administración por vía nasal.

[0274] Algunos grupos de ratones se pueden tratar con tratamientos adicionales y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control a diversos puntos temporales
10 y dosis eficaces.

[0275] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el
15 tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos.

[0276] Se controla la glucosa en sangre quincenalmente antes del inicio del experimento. En diversos puntos de tiempo
20 posteriores, se mide la glucosa en sangre sin ayuno. En diversos puntos de tiempo, se sacrifican los ratones y pueden extirparse el sitio como el páncreas, los ganglios linfáticos u otros tejidos para un análisis citológico ex vivo histológico, de citocinas y/o de flujo usando métodos conocidos
25 en la técnica. 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 materia. Los anticuerpos de tinción pueden incluir anti-CD11c (células
30 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 paninmunes CD45, marcadores de linfocitos T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 puede llevarse a cabo en células inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes de infiltración de tejidos purificadas obtenidas *ex vivo*. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en diversas secciones de tejido para medir linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control. También puede evaluarse la producción de anticuerpos mediante ELISA.

[0277] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden re-exponerse a un desencadenante de la enfermedad, o evaluarse para determinar la susceptibilidad a la recaída. Se analizan los ratones para determinar la susceptibilidad a la aparición de diabetes y la gravedad después del re-exposición (o recaída espontánea).

Ejemplo 6: Un modelo de colangitis esclerosante primaria (PSC) en ratón

[0278] La colangitis esclerosante primaria (PSC) es una enfermedad hepática crónica que daña lentamente los conductos biliares y conduce a una cirrosis terminal. Se asocia con enfermedad inflamatoria intestinal (IBD).

[0279] Existen varios modelos animales para PSC, según la revisión de Fickert *et al.* (Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC). J Hepatol. jun. de 2014 60(6): 1290-1303; véase también Pollheimer y Fickert. Animal models in primary biliary cirrhosis y primary sclerosing cholangitis. Clin Rev Allergy Immunol. 2015 jun. 48(2-3): 207-17). La inducción de enfermedad en los modelos de PSC incluye inducción química (por ejemplo, colangitis inducida por 3,5-dietoxicarbonil-1,4-dihidrocolidina (DDC)), inducida por patógenos (por ejemplo *Cryptosporidium parvum*), obstrucción biliar experimental (por ejemplo, ligadura del conducto biliar común (CBDL)), y modelo de ratón transgénico de lesión biliar impulsada por antígeno (por ejemplo, ratones transgénicos Ova-Bil). Por ejemplo, se realiza la ligadura del conducto biliar como se describe por Georgiev *et al.* (Characterization of time-related changes after experimental bile duct ligation. Br J Surg. 2008. 95(5): 646-56), o se induce la enfermedad por la 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.

[0280] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* descrita en el presente documento en un modelo de PSC en ratón, bien sola o en combinación con otras cepas, con o sin la adición de algún otro agente terapéutico.

Colangitis inducida por DCC

[0281] Por ejemplo, se obtienen ratones C57bl/6 de 6-8 semanas de edad de Taconic u otro proveedor. Se alimentan los ratones con una dieta complementada con DCC al 0.1% para diversas duraciones. Algunos grupos reciben complementos de

DCC durante 1 semana, otros durante 4 semanas, otros durante 8 semanas. Algunos grupos de ratones pueden recibir una dieta complementada con DCC durante un periodo de tiempo y luego se les permite recuperarse, a partir de entonces recibir una dieta normal. Estos ratones pueden ser estudiados por su capacidad para recuperarse de una enfermedad y/o su susceptibilidad a una recaída en la exposición posterior a DCC. El tratamiento con *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella* se inicia en algún punto, bien alrededor del momento de la alimentación con DCC o posteriormente a la exposición inicial a DCC. Por ejemplo, la cepa bacteriana se puede administrar el día 1, o se puede administrar en algún momento después. La cepa bacteriana se administra a dosis variadas y a intervalos definidos. Por ejemplo, a algunos ratones se les inyecta por vía intravenosa con la cepa bacteriana a un intervalo de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50, 100 mg de cepa bacteriana por ratón. Mientras que algunos ratones reciben la cepa bacteriana a través de inyección i.v., otros ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través de inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la cepa bacteriana todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse

recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con 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 la cepa bacteriana. La administración de *Veillonella* puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir administración por sonda nasogástrica, 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 puntos temporales y a dosis eficaces.

[0282] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos. En diversos puntos de tiempo, se analizan las muestras de suero para ALT, AP, bilirrubina, y niveles de ácido biliar (BA) en suero.

[0283] En diversos puntos temporales, los ratones se sacrifican, se registra el peso corporal y el del hígado, y los sitios de inflamación (por ejemplo, el hígado, el intestino delgado y grueso, el bazo), los nódulos linfáticos y otros tejidos se pueden extraer para la caracterización histomorfológica ex vivo, el análisis de citocina y/o de citometría de flujo usando métodos conocidos en la materia (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 están manchados 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 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 se pueden analizar incluyen el marcador de células paninmunes CD45, los marcadores de linfocitos 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 de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas del conducto biliar CD45 + obtenidas *ex vivo*.

[0284] Se prepara el tejido hepático para el análisis histológico, por ejemplo, usando tinción con rojo de Sirius seguido de cuantificación del área fibrótica. Al final del tratamiento, se extrae sangre para el análisis de plasma de las enzimas hepáticas, por ejemplo, AST o ALT, y para determinar los niveles de bilirrubina. Puede medirse el contenido hepático de hidroxiprolina usando protocolos

establecidos. Puede realizarse el análisis de expresión génica hepática de marcadores de inflamación y fibrosis mediante qRT-PCR usando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero no se limitan a, MCP-1, alfa-SMA, Coll1a1, y TIMP-. Las mediciones de metabolitos pueden realizarse en plasma, tejidos y muestras fecales usando métodos de metabolómica establecidos. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en secciones hepáticas para medir neutrófilos, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas u otros infiltrados de células inmunes.

[0285] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden re-exponerse a DCC en otro momento. Se analizan los ratones para determinar la susceptibilidad a la colangitis y la gravedad de colangitis después del re-exposición.

Colangitis inducida por BDL

[0286] Como alternativa, se probó la eficacia de composiciones bacterianas que contienen *Veillonella* en colangitis inducida por BDL. Por ejemplo, se obtienen ratones C57Bl/6J con 6-8 semanas de edad de Taconic u otro proveedor. Después de un periodo de aclimatación, los ratones se someten a un procedimiento quirúrgico para realizar una ligadura del conducto biliar (BDL). Algunos animales de control reciben una cirugía simulada. El procedimiento de BDL conduce a daño hepático, inflamación y fibrosis en 7-21 días.

[0287] El tratamiento con *Veillonella* se inició en algún momento, bien alrededor del momento de la cirugía o en algún momento tras la cirugía. La *Veillonella* se administra a dosis variadas y a intervalos definidos. Por ejemplo, a algunos

ratones se les inyecta por vía intravenosa con la cepa bacteriana a un intervalo de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de cepa bacteriana por ratón. Mientras que algunos ratones reciben *Veillonella* a través de inyección i.v., otros ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través de inyección i.p., inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones reciben la cepa bacteriana todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana en intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con 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 la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana, la administración de las células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir administración por sonda nasogástrica, 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 puntos temporales y a dosis eficaces.

[0288] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden

vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos. En diversos puntos de tiempo, se analizan las muestras de suero para ALT, AP, bilirrubina, y niveles de ácido biliar (BA) en suero.

[0289] En diversos puntos temporales, los ratones se sacrifican, se registra el peso corporal y el del hígado, y los sitios de inflamación (por ejemplo, el hígado, el intestino delgado y grueso, el bazo), los nódulos linfáticos y otros tejidos se pueden extraer para la caracterización histomorfológica ex vivo, el análisis de citocina y/o de citometría de flujo usando métodos conocidos en la materia (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 están manchados 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 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 se pueden analizar incluyen el marcador de células paninmunes CD45, los marcadores de linfocitos 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 de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas del conducto biliar CD45 + obtenidas *ex vivo*.

[0290] Se prepara el tejido hepático para el análisis histológico, por ejemplo, usando tinción con rojo de Sirius seguido de cuantificación del área fibrótica. Al final del tratamiento, se extrae sangre para el análisis de plasma de las enzimas hepáticas, por ejemplo, AST o ALT, y para determinar los niveles de bilirrubina. Puede medirse el contenido hepático de hidroxiprolina usando protocolos establecidos. Puede realizarse el análisis de expresión génica hepática de marcadores de inflamación y fibrosis mediante qRT-PCR usando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero no se limitan a, MCP-1, alfa-SMA, Coll1a1, y TIMP-. Las mediciones de metabolitos pueden realizarse en plasma, tejidos y muestras fecales usando métodos de metabolómica establecidos. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en secciones hepáticas para medir neutrófilos, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas u otros infiltrados de células inmunes.

[0291] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden analizarse para una recuperación.

Ejemplo 7: Un modelo de esteatohepatitis no alcohólica (NASH) en ratón

5 [0292] La esteatohepatitis no alcohólica (NASH) es una forma grave de enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) en donde la acumulación de grasa hepática (esteatosis) y la inflamación llevan a lesiones hepáticas y muerte celular de los hepatocitos (balonización).

10 [0293] Existen diversos modelos animales de NASH, tal como se revisa por Ibrahim *et al.* (Animal models of nonalcoholic steatohepatitis: Eat, Delete, and Inflamm. Dig Dis Sci. mayo 2016. 61(5): 1325-1336; véase también Lau *et al.* Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances enero 2017 241(1): 36-44).

15 [0294] Se probó la eficacia de *Veillonella* en un modelo de NASH en ratón, bien sola o en combinación con células bacterianas completas, con o sin la adición de otro agente terapéutico. Por ejemplo, los ratones C57Bl/6J de 8-10 semanas de edad, obtenidos de Taconic (Germantown, NY), u otro proveedor, se colocan en una dieta deficiente en metionina colina (MCD) durante un período de 4-8 semanas durante el cual se desarrollan las características NASH, incluyendo la esteatosis, inflamación, hinchazón y fibrosis.

20 [0295] El tratamiento con *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella* se inicia en algún punto, bien al comienzo de la dieta, o en algún punto tras el inicio de la dieta (por ejemplo, una semana después). Por ejemplo, la cepa bacteriana se puede administrar comenzando el mismo día que el inicio de la dieta MCD. La cepa bacteriana se administra a dosis variadas y a intervalos definidos. Por ejemplo, a algunos ratones se les

inyecta por vía intravenosa con la cepa bacteriana a dosis entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de cepa bacteriana por ratón. Mientras que algunos ratones reciben la cepa bacteriana a través de inyección i.v., otros ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través de inyección intraperitoneal (i.p.), inyección subcutánea (s.c.), administración por vía nasal, sonda gástrica u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la cepa bacteriana todos los días (por ejemplo, comenzando el día 1), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana a intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas, muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

[0296] 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 la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana, la administración de las células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir administración por sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., o administración por vía nasal. Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) terapéutico(s) de NASH adicional(es) (por ejemplo, agonistas de FXR, agonistas de PPAR, antagonistas de CCR2/5 u otro tratamiento) y/o control apropiado a diversos puntos temporales y dosis eficaces.

[0297] En diversos puntos de tiempo y/o al final del tratamiento, se sacrifican los ratones y pueden extirparse el hígado, el intestino, la sangre, las heces u otros tejidos para análisis histológicos, bioquímicos, moleculares o de citocinas y/o citometría de flujo ex vivo utilizando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los tejidos del hígado se pesan y preparan para el análisis histológico, que puede comprender la tinción con H&E, Sirius Red, y la determinación de la puntuación de actividad NASH (NAS). En diversos puntos de tiempo, se extrae sangre para el análisis de plasma de enzimas hepáticas, por ejemplo, AST o ALT, usando ensayos estándar. Además, el contenido hepático de colesterol, triglicéridos o ácidos grasos puede medirse utilizando protocolos establecidos. El análisis de la expresión génica hepática de inflamación, fibrosis, esteatosis, estrés ER, o marcadores de estrés oxidativo puede realizarse mediante qRT-PCR utilizando cebadores validados. Estos marcadores pueden incluir, pero no se limitan a, IL-6, MCP-1, α -SMA, Coll1a1, CHOP, y NRF2. Las mediciones de metabolitos pueden realizarse en plasma, tejidos y muestras fecales usando métodos de metabolómica establecidos basados en espectrometría de masas y producto bioquímico. Las citocinas séricas se analizan incluyendo, pero no se limitan a, 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 inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas del conducto biliar CD45 + obtenidas ex vivo. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en secciones hepáticas o

intestinales para medir neutrófilos, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas u otros infiltrados de células inmunes.

[0298] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección de la enfermedad, en lugar de ser sacrificados, algunos ratones pueden analizarse para una recuperación.

Ejemplo 8: Un modelo de psoriasis en ratón

[0299] La psoriasis es una enfermedad cutánea inflamatoria crónica mediada por linfocitos T. La llamada psoriasis "en placa" es la forma más común de psoriasis y se caracteriza por escamas secas, placas rojas y engrosamiento de la piel debido a la infiltración de células inmunes en la dermis y la epidermis. Varios modelos animales han contribuido a la comprensión de esta enfermedad, según lo revisado por 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 1 de mayo. 182(9): 5836-45).

[0300] La psoriasis puede inducirse en una variedad de modelos de ratones, incluyendo los que usan modelos transgénicos, deficientes, o de xenoinjerto, así como la aplicación tópica de imiquimod (IMQ), un ligando TLR7/8.

[0301] Se probó la eficacia de *Veillonella* en el modelo de psoriasis en ratón, bien sola o en combinación con células bacterianas completas, con o sin la adición de otros tratamientos antiinflamatorios. Por ejemplo, se obtienen ratones C57Bl/6 o Balb/c de 6-8 semanas de edad de Taconic (Germantown, NY), u otro proveedor. Se afeitan los ratones en el lomo y la oreja derecha. Los grupos de ratones reciben una dosis tópica diaria de 62.5 mg de crema IMQ disponible

comercialmente (5%) (Aldara; 3M Pharmaceuticals). Se aplica la dosis a las áreas afeitadas durante 5 o 6 días consecutivos. A intervalos regulares, se puntúa a los ratones por eritema, escalamiento y engrosamiento en una escala de 0 a 4, según lo descrito por van der Fits *et al.* (2009). Los ratones se monitorizaron para determinar el grosor de la oreja usando un micrómetro Mitutoyo.

[0302] El tratamiento con la cepa bacteriana se inicia en algún punto, bien alrededor del tiempo de la primera aplicación de IMQ, o algo después. Por ejemplo, se puede administrar *Veillonella* al mismo tiempo que las inyecciones subcutáneas (día 0) o se pueden administrar antes de, o después de la aplicación. La cepa bacteriana se administra a dosis variadas y a intervalos definidos. Por ejemplo, a algunos ratones se les inyecta por vía intravenosa con la cepa bacteriana a una dosis de entre 1×10^4 y 5×10^9 células bacterianas por ratón. Otros ratones pueden recibir 25, 50 o 100 mg de cepa bacteriana por ratón. Mientras que algunos ratones reciben la cepa bacteriana a través de inyección i.v., otros ratones pueden recibir la cepa bacteriana a través de la inyección intraperitoneal (i.p.), administración por vía nasal, sonda gástrica, administración tópica, inyección intradérmica (i.d.), inyección subcutánea (s.c.) u otros medios de administración. Algunos ratones pueden recibir la cepa bacteriana todos los días (por ejemplo, comenzando el día 0), mientras que otros pueden recibir la cepa bacteriana a intervalos alternativos (por ejemplo, en días alternos o una vez cada tres días). Los grupos adicionales de ratones pueden recibir alguna proporción de células bacterianas frente a la cepa bacteriana. Las células bacterianas pueden estar vivas,

muertas o debilitadas. Las células bacterianas pueden recogerse recién preparadas (o congeladas) y administrarse, o pueden irradiarse o destruirse con calor antes de la administración.

5 **[0303]** 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 la cepa bacteriana. Como con la cepa bacteriana, la administración de las células bacterianas puede variar por la vía de administración, la dosis y la pauta. Esto puede incluir
10 administración por sonda nasogástrica, inyección i.v., inyección i.p., inyección, i.d., inyección, s.c. administración tópica o vía nasal.

15 **[0304]** Algunos grupos de ratones se pueden tratar con agente(s) antiinflamatorio(s) (por ejemplo, anti-CD154, bloqueo de miembros de la familia TNF u otro tratamiento, y/o un control apropiado (por ejemplo, vehículo o anticuerpo de control) en diversos puntos temporales y a dosis eficaces.

20 **[0305]** Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se tratan algunos ratones inmunizados sin recibir antibióticos.

25 **[0306]** En varios puntos de tiempo, se toman muestras de la piel del lomo y las orejas para el análisis de tinción de criosección utilizando métodos conocidos en la técnica. Se sacrifican otros grupos de ratones y pueden extirparse los ganglios linfáticos, el bazo, los ganglios linfáticos
30 mesentéricos (MLN), el intestino delgado, el colon y otros

tejidos para estudios histológicos, histológicos ex vivo, análisis citométrico de flujo de citocinas y/o usando métodos conocidos en la técnica. Algunos tejidos se pueden disociar usando enzimas de disociación de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se tiñen las muestras de criosección, muestras de tejido, o células obtenidas ex vivo para su análisis por citometría de flujo utilizando 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 paninmunes CD45, marcadores de linfocitos T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1, F4/80). Además de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 puede llevarse a cabo en células inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas en la piel CD45 + obtenidas ex vivo. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en diversas secciones de tejido para medir linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control.

[0307] Para examinar el impacto y la longevidad de la protección contra la psoriasis, en lugar de sacrificarse, algunos ratones pueden estudiarse para evaluar la recuperación, o pueden ser reexaminados con IMQ. Los grupos de re-exposición

se analizan los ratones para determinar la susceptibilidad a la psoriasis y gravedad de la respuesta.

Ejemplo 9: Un modelo de melanoma de ratón

5 **[0308]** Se obtienen ratones C57Bl/6 de 6-8 semanas de edad de Taconic (Germantown, NY). Se resuspenden 100.000 células tumorales B16-F10 (ATCC CRL-6475) en PBS estéril que contiene Matrigel 50% en un volumen final de 100 μ l en un flanco trasero (el primer flanco) de cada ratón. El tratamiento con *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C
10 y/u otra cepa de *Veillonella* se inicia en algún punto tras la inoculación de la célula tumoral a dosis variadas y a intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben entre $1-5 \times 10^9$ UFC (volumen final de 100 μ l) por dosis. Las posibles vías de administración incluyen sonda oral (p.o.),
15 inyección intravenosa, inyección intratumoral (IT) o inyección peritumoral o subtumoral o inyección subcutánea. Con el fin de evaluar los efectos antitumorales sistémicos del tratamiento con *Veillonella*, los ratones adicionales se pueden inocular con células tumorales en el flanco contralateral (no tratado, segundo) antes del tratamiento IT, peritumoral o subtumoral
20 con *Veillonella* en el primer flanco.

[0309] Algunos ratones pueden recibir *Veillonella* (p.o.) en el día 1 (el día tras la inyección de la célula tumoral). Otros ratones pueden recibir siete (7) dosis
25 consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por
30 ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto

tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia. Por ejemplo, cuando los volúmenes tumorales alcanzan un promedio de 100 mm³ (aproximadamente 10-12 días después de la inoculación de las células tumorales), los animales se distribuyen en grupos tratados con cualquier vehículo o una cepa bacteriana (p.o. o IT). Algunos grupos adicionales de ratones pueden tratarse con agente terapéutico adicional contra el cáncer o con un anticuerpo de control apropiado. Un ejemplo de un agente terapéutico contra el cáncer que puede administrarse es un inhibidor de un punto de control inmunitario, por ejemplo anti-PD-1, anti-PD-L1, u otro tratamiento que bloquea la unión de un punto de control inmunitario con su(s) ligando(s). Los inhibidores de punto de control anti-PD-1 y anti-PD-L1 pueden formularse en PBS y administrarse por vía intraperitoneal (i.p.) en dosis eficaces. Por ejemplo, los ratones reciben 100 ug de anti-PD-1 (i.p.) cada cuatro días a partir del día 1, y continúan durante la duración del estudio.

[0310] Además, se tratan algunos ratones con antibióticos antes del tratamiento. Por ejemplo, se añaden vancomicina (0.5 g/l), ampicilina (1.0 g/l), gentamicina (1.0 g/l) y anfotericina B (0.2 g/l) al agua potable, y el tratamiento antibiótico se detiene al momento del tratamiento o en pocos días antes del tratamiento. Se inoculan algunos ratones con células tumorales sin recibir tratamiento previo con antibióticos.

[0311] En varios puntos de tiempo, se sacrifican ratones y se pueden extirpar tumores, ganglios linfáticos u otros tejidos para análisis de citometría de flujo *ex vivo* usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los

tumores se disocian usando una mezcla de enzimas de disociación del tumor de Miltenyo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se registran los pesos de los tumores y se colocan los tumores se cortan y luego en tubos de 15 ml que contienen el cóctel de enzimas y se colocan en hielo. Luego, las muestras se colocan en un agitador suave a 37°C durante 45 minutos y se extinguen con hasta 15 ml de RPMI completo. Cada suspensión celular se cuela a través de un filtro de 70 μ m en un tubo de halcón de 50 ml y se centrifuga a 1000 rpm durante 10 minutos. Se resuspenden las células en tampón FACS y se lavan para eliminar los restos restantes. Si es necesario, se vuelven a filtrar las muestras a través de un segundo filtro de 70 μ m en un tubo nuevo. Las células se tiñen para el 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 paninmunes CD45, marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, CD25, Foxp3, T-bet, Gata3, Ror γ t, Granzyme B, CD69, PD-1, CTLA-4), y marcadores de macrófagos/mieloides (CD11b, MHCII, CD206, CD40, CSF1R, PD-L1, Gr-1). Además de la inmunofenotipificación, se analizan las citocinas séricas, que incluyen pero no se limitan a, 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 con células inmunes obtenidas de ganglios linfáticos u otro tejido, y/o en células inmunes purificadas infiltradas de tumor CD45+ obtenidas *ex vivo*. Finalmente, se lleva a cabo la inmunohistoquímica en secciones tumorales para medir células

T, macrófagos, células dendríticas, y expresión de proteína de molécula de punto de control.

[0312] En lugar de sacrificarlos, algunos ratones se pueden reexponer con inyección de células tumorales en el flanco contralateral (u otro área) para determinar el impacto de la respuesta de memoria del sistema inmunitario en el crecimiento tumoral.

[0313] En ratones que reciben la dieta MCD (inductora de NASH), la cepa C de *Veillonella* administrada por vía oral fue eficaz en la reducción de la puntuación NAS en comparación con los grupos de vehículo y sin tratamiento (controles negativos) (Fig. 10). La cepa C de *Veillonella* redujo la puntuación de fibrosis en ratones tratados (Fig. 11). La cepa C de *Veillonella* redujo el colesterol hepático total (Fig. 12) y los triglicéridos hepáticos (Fig. 13).

Ejemplo 10: Un modelo de cáncer de pulmón en ratón

[0314] Se probó la eficacia de *Veillonella* en el modelo de cáncer de pulmón en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella* con o sin tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se administra a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días.

Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0315] 1X10⁶ células LLC1 o un número apropiado de células de cáncer de pulmón de otra línea de cáncer de pulmón se inyectan en el flanco trasero de ratones singénicos. Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo de tumores usando citometría de flujo. Otros ratones se pueden reexponer con inyección de células tumorales en el flanco contralateral para determinar el impacto de la respuesta de memoria del sistema inmunitario en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 11: Un modelo de cáncer de mama en ratón

[0316] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de cáncer de mama en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer incluyendo inhibidor(es) del punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, se administra una cepa bacteriana a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben

dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0317] Las células de carcinoma mamario 4T1 se obtienen de ATCC y se inyectan 1x10⁶ células en 50 µl de PBS por vía subcutánea en una o ambas patas traseras de ratones Balb/c hembra (tal como se describe por Wang *et al.* 2003, Systemic dissemination of viral vectors during intratumoral injection. Molecular Cancer Therapeutics; 2(11)). Como alternativa, las células de carcinoma mamario de ratón EMT6 se obtienen de ATCC y se inyectan 1x10⁶ células en 50 µl de PBS por vía subcutánea en una o ambas patas traseras de ratones Balb/c hembra de 6-8 semanas de vida (tal como se describe por Guo *et al.* 2014, Combinatorial Photothermal and Immuno Cancer Therapy Using Chitosan-Coated Hollow Copper Sulfide Nanoparticles. ASC Nano.; 8(6): 5670-5681). Además, se pueden usar otras líneas celulares mamarias de ratón disponibles.

[0318] Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se administra a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo. Otros ratones se pueden reexponer con inyección de células tumorales en el flanco contralateral para determinar el impacto de la respuesta de memoria del sistema inmunitario en el crecimiento tumoral.

[0319] Como alternativa, se pueden usar células 4T1 en un modelo ortotópico de cáncer de mama en murino tal como se

describe por Tao *et al.* (Tao *et al.* 2008. Imagable 4T1 model for the study of late stage breast cancer. 8: 288). Los ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor. Los tumores se analizan mediante citometría de flujo e inmunohistoquímica.

5 **Ejemplo 12: Un modelo de cáncer de páncreas en ratón**

[0320] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de cáncer de páncreas en ratón, bien solo o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en
10 grupos que reciben una cepa bacteriana, con o sin tratamiento con inhibidor de punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones reciben *Veillonella* (p.o.) el día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa
15 bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores
20 alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0321] Las células Panc02 se mantienen en DMEM, suplementado con suero de ternera fetal al 10 %, y penicilina/estreptomicina al 1 %, y se incubaron a 37 °C con
25 CO₂ al 5 %. Los ratones C57Bl/6 de 8-10 semanas de vida se obtienen de Charles River, Inc. u otro promotor certificado. A los ratones C57Bl/6 se les inyecta por vía subcutánea en el flanco derecho posterior 1x10⁶ células Panc02. Este protocolo se basa en modelos convencionales de Panc02 (Maletzki *et al.*
30 2008. Pancreatic cancer regression by intratumoral injection

of live streptococcus pyogenes in a syngeneic mouse model. Gut. 57:483-491). Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

[0322] Como alternativa, las líneas celulares Panc02, 6606PDA, o Capan-1 se pueden usar en un modelo ortotópico de murino de cáncer de páncreas tal como se describe por Partecke *et al.* (Partecke *et al.* 2011. A syngeneic orthotopic murine model of pancreatic adenocarcinoma in the C57/Bl6 mouse using the Panc02 and 6606PDA cell lines. Eur. Surg. Res. 47(2):98-107) o Chai *et al.* (Chai *et al.* 2013. Bioluminescent orthotopic model of pancreatic cancer progression. J. Vis. Exp. 76: 50395). Los ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor. Los tumores se analizan mediante citometría de flujo e inmunohistoquímica.

Ejemplo 13: Un modelo de carcinoma hepatocelular en ratón

[0323] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de carcinoma hepatocelular en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) del punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben una cepa bacteriana, con o sin tratamiento con inhibidor de punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se administra a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones recibieron *Veillonella* (p.o.) el día después de la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los

días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0324] El carcinoma hepatocelular se induce en ratones mediante inoculación subcutánea de 1x10⁶ células Hepa129 (obtenidas de NCI u otra fuente) o un número apropiado de células de otra línea celular de carcinoma hepatocelular (tal como se describe por Gonzalez-Carmona *et al.* 2008. CD40 ligand-expressing dendritic cells induce regression of hepatocellular carcinoma by activating innate and acquired immunity in vivo. *Hepatology*. 48(1):157-168). Las células tumorales se inoculan en uno o ambos flancos. Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 14: Un modelo de linfoma en ratón

[0325] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de linfoma en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Por ejemplo, los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento de inhibidor de punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, se administra una cepa bacteriana a dosis variadas

en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0326] Una línea celular de linfoma es el linfoma A20, aunque se pueden usar otras líneas celulares de linfoma con ratones singénicos. Las células de linfoma A20 se obtienen de ATCC y se inyectan 5x10⁶ células en 50 ul de PBS por vía subcutánea en una o ambas extremidades posteriores de los ratones Balb/c hembra (tal como se describe por Houot *et al.* 2009. T-cell modulation combined with intratumoral CpG cures lymphoma in a mouse model without the need for chemotherapy. Blood. 113(15): 3546-3552). Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 15: Un modelo de cáncer de próstata en ratón

[0327] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de cáncer de próstata en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo

inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se administra a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de *Veillonella* (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0328] Las células de cáncer de próstata de ratón (1x10⁵ células RM-1 o un número apropiado de células de otra línea celular de cáncer de próstata) se inyectan en ratones singénicos. Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 16: Un modelo de plasmacitoma en ratón

[0329] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de plasmacitoma en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en

grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, se administra una cepa bacteriana a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de *Veillonella* (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

Modelo de plasmacitoma inducido por aceite mineral

[0330] Para examinar la eficacia de *Veillonella* en un modelo de plasmacitoma o mieloma múltiple, a los ratones se les inyecta tres veces por vía intraperitoneal con 500 ul de 2,6,10,12-tetrametilpentadecano ("aceite de pristano") en diversos puntos temporales entre 0 y 60 días, tal como se describe por Potter et al. 1983. Peritoneal plasmacytomagenesis in mice: comparison of different pristane dose regimens. J. Natl. Cancer Inst. 71(2):391-5 (véase también Lattanzio et al. 1997. Defective Development of Pristane-Oil Induced Plasmacytomas in Interleukin-6-Deficient BALB/C Mice. Am. J. Pathology: 151(3):689696). La progresión de la enfermedad se mide mediante el grado de inflamación abdominal y células y partículas inmunitarias en la ascitis. El líquido de la ascitis

se analiza para el fenotipo de células inmunitarias mediante citometría de flujo.

Modelo de plasmacitoma inducido por línea celular

[0331] Para examinar la eficacia de la *Veillonella* en un modelo de plasmacitoma o mieloma múltiple, o bien las células MOPC-104E o las células de plasmacitoma J558 (TIB-6 ATCC) se inyectan por vía subcutánea en uno o más flancos traseros de los ratones Balb/c (5×10^6 células), basándose en el modelo descrito por Bhoopalam et al. 1980. Effect of dextran-S (alpha, 1-3 dextran) on the growth of plasmacytomas MOPC-104E and J558. J. Immunol. 125(4):1454-8 (véase también Wang et al. 2015. IL-10 enhances CTL-mediated tumor rejection by inhibiting highly suppressive CD4+ T cells and promoting CTL persistence in a murine model of plasmacytoma. OncoImmunology. 4(7): e1014232-1-9). Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* por sonda gástrica y con o sin tratamiento con inhibidor del punto de control. Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 17: Un modelo de mieloma de ratón en ratón SCID

[0332] Se probó la eficacia de una cepa de *Veillonella* en el modelo de mieloma en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento inhibidor del

punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se administra a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de *Veillonella* (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0333] Para examinar la eficacia de *Veillonella* usando una leucemia de células plasmáticas humanas, se usan 1x10⁷ líneas celulares de mieloma humano, células ARH77 (ARH77-ATCC CRL-1621, o un número apropiado de células de otra línea celular de mieloma como KPMM2). Las células de mieloma se inyectan por vía subcutánea en uno o ambos flancos posteriores de ratones SCID (véase Caer et al. 2004. Of mice and men: disease models of multiple myeloma. Drug Discovery Today: Disease Models. 1(4):373-380. Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 18: Un modelo de carcinoma de células renales en ratón

[0334] Se probó la eficacia de una cepa bacteriana en el modelo de carcinoma de células renales en ratón, bien sola

o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se puede administrar a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana de *Veillonella* (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0335] Para examinar la eficacia de la *Veillonella* en un modelo de carcinoma de células renales en ratón, las células Renca (ATCC CRL-2947) u otras células de carcinoma renal se inyectan por vía subcutánea en uno o ambos flancos de ratones Balb/c singénicos de 7-8 semanas de vida (5×10^6 en 0.1 ml de PBS). Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 19: Un modelo de cáncer de vejiga en ratón

[0336] Se probó la eficacia de una cepa bacteriana en el modelo de cáncer de vejiga en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se puede administrar a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

[0337] El día de la inoculación, las células MBT-2 (u otra línea celular de cáncer de vejiga) se recogen y se resuspenden en mezcla de PBS/Matrigel a 1:1. Se suspenden 2x10⁵ células MBT-2 en 100 ul de mezcla y se inyectan por vía subcutánea en uno o ambos flancos traseros de los ratones singénicos. Se miden los tumores con calibres a intervalos regulares.

[0338] Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen

para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 20: Un modelo de carcinoma colorrectal en ratón

5 [0339] Se probó la eficacia de una cepa bacteriana en el modelo de carcinoma colorrectal en ratón, bien sola o en combinación con otras terapias de cáncer, incluyendo inhibidor(es) de punto de control. Los ratones se dividen en grupos que reciben *Veillonella* cepa A, *Veillonella* cepa B, *Veillonella* cepa C y/u otra cepa de *Veillonella*, con o sin
10 tratamiento inhibidor del punto de control. Tal como se describe en el Ejemplo 9, la *Veillonella* se puede administrar a dosis variadas en intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben una cepa bacteriana (p.o.) al día siguiente a la inyección de células tumorales (día 1). Algunos ratones
15 reciben siete (7) dosis consecutivas de una cepa bacteriana (una dosis por día en los días 14-21). Otros ratones reciben dosis diarias o, alternativamente, algunos ratones reciben dosis cada dos días. Alternativamente, los ratones son aleatorizados en diversos grupos de tratamiento en un punto de
20 tiempo definido (por ejemplo en el día 13) o cuando los tumores alcanzan cierto tamaño (por ejemplo 100 mm³) y luego se inicia el tratamiento en consecuencia.

25 [0340] Los ratones Balb/c hembra de 6-8 semanas de vida se obtienen de Taconic (Germatown, NY). Se resuspendieron 100,000 células de tumor colorrectal CT-26 (ATCC CRL-2638) en PBS estéril y se inocularon en presencia de Matrigel al 50 %. Las células tumorales CT-26 se inyectaron por vía subcutánea en un flanco posterior de cada ratón. El tratamiento con una
30 cepa de *Veillonella* se inicia en algún punto tras la inoculación de las células tumorales a dosis variadas y a

intervalos definidos. Por ejemplo, algunos ratones reciben entre $1-5 \times 10^9$ UFC (volumen final de 100 μ l) por dosis. Las posibles vías de administración incluyen sonda oral (p.o.), inyección intravenosa, inyección intratumoral (IT) o inyección peritumoral o subtumoral o inyección subcutánea. Con el fin de evaluar los efectos antitumorales sistémicos del tratamiento con *Veillonella*, los ratones adicionales se pueden inocular con células tumorales en el flanco contralateral (no tratado, segundo) antes del tratamiento IT, peritumoral o subtumoral con *Veillonella* en el primer flanco.

[0341] Los tumores de los diversos grupos de tratamiento se miden con calibres a intervalos regulares. Tal como se describe en el Ejemplo 9, algunos ratones se sacrifican para el análisis ex vivo del tumor usando citometría de flujo, mientras que otros ratones se reexponen para determinar el impacto de la respuesta de memoria en el crecimiento tumoral.

Ejemplo 21: Condiciones de fabricación

[0342] Los medios enriquecidos se usan para crecer y preparar la bacteria para uso *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, los medios pueden contener azúcar, extractos de levadura, peptonas de origen vegetal, tampones, sales, oligoelementos, tensioactivos, agentes antiespumantes y vitaminas. La composición de componentes complejos tales como los extractos de levadura y las peptonas puede estar indefinida o parcialmente definida (incluyendo concentraciones aproximadas de aminoácidos, azúcares, etc.). El metabolismo microbiano puede depender de la disponibilidad de recursos tales como el carbono y el nitrógeno. Pueden someterse a prueba diversos azúcares u otras fuentes de carbono. Alternativamente, pueden prepararse medios y el crecimiento de bacteria seleccionada

tal como se muestra por Saarela *et al.*, *J. Applied Microbiology*. 2005. 99: 1330-1339, que se incorpora en el presente documento como referencia. Influencia del tiempo de fermentación, crioprotector y neutralización del concentrado celular en la supervivencia por liofilización, estabilidad de almacenamiento, exposición a ácidos y bilis de la bacteria seleccionada producida sin componentes a base de leche.

[0343] A gran escala, se esterilizan los medios. La esterilización puede ser por procesamiento de temperatura ultra alta (UHT). Se realiza el procesamiento UHT a temperaturas muy altas durante cortos periodos de tiempo. El rango UHT puede ser de 135-180°C. Por ejemplo, el medio puede esterilizarse entre 10 y 30 segundos a 135°C.

[0344] Puede prepararse el inóculo en matraces o en biorreactores más pequeños y se controla el crecimiento. Por ejemplo, el tamaño del inóculo puede estar entre aproximadamente el 0.5 y el 3% del volumen total del biorreactor. Dependiendo de la aplicación y la necesidad de material, el volumen del biorreactor puede ser al menos 2 L, 10 L, 80 L, 100 L, 250 L, 1000 L, 2500 L, 5000 L, 10,000 L.

[0345] Antes de la inoculación, se prepara el biorreactor con medio al pH, temperatura y concentración de oxígeno deseados. El pH inicial del medio de cultivo puede ser diferente al punto de ajuste del proceso. El estrés del pH puede ser perjudicial a baja concentración celular; el pH inicial podría estar entre pH 7.5 y el punto de ajuste del proceso. Por ejemplo, puede establecerse el pH 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 desde 25°C hasta 45°C,

por ejemplo a 37°C. Se crean las condiciones anaeróbicas al reducir el nivel de oxígeno en el caldo de cultivo de alrededor de 8 mg/l a 0 mg/l. Por ejemplo, pueden usarse mezclas de nitrógeno o gas (N₂, CO₂, y H₂) para establecer condiciones anaeróbicas. Alternativamente, no se usan gases y se establecen las condiciones anaeróbicas 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 desde aproximadamente 5 horas hasta 48 horas.

[0346] Por ejemplo, se diluye un vial congelado al 0.1 % en 1 litro de medio a 37 °C durante 12-16 horas. El medio es PM11 con 1 g/l de L-lactato de sodio (sin FeSO₄, sin NH₄Cl, sin malato). El 1 litro de medio se diluye al 1 % en un biorreactor de 15 litros a 37, 150 rpm, gas de CO₂ al 5 % y N₂ al 95 %, pH no controlado durante 16-18 horas. La alimentación es 10X YEP, 33 g/l L-lactato de sodio (sin G₂) (Alimentación constante: 11 ml/lh). Luego se centrifuga a 10,000 g, 10C, durante 10 minutos para recolectar 90 g de sedimento/15l. Después se coloca en un nuevo estabilizante: sacarosa-dextrano-cisteína 0.18 g de estab/g de sedimento.

[0347] Los microbios recuperados de un estado congelado pueden requerir consideraciones especiales. El medio de producción puede estresar las células después de una descongelación; puede requerirse un medio de descongelación específico para iniciar consistentemente un tren de semillas a partir de material descongelado. La cinética de transferencia o paso del material de la semilla al medio recién hecho, con el propósito de aumentar el volumen de la semilla o mantener el estado de crecimiento microbiano, puede estar influenciada

por el estado actual de los microbios (por ejemplo, crecimiento exponencial, crecimiento estacionario, sin estrés, estresado).

5 **[0348]** La inoculación de los fermentadores de producción puede afectar la cinética de crecimiento y la actividad celular. El estado inicial del sistema de biorreactor debe optimizarse para facilitar una producción exitosa y consistente. La fracción del cultivo de semillas al medio total (por ejemplo, un porcentaje) tiene un impacto dramático en la cinética de crecimiento. El intervalo puede ser el 1-5 % del volumen de trabajo del fermentador. El pH inicial del medio de cultivo puede ser diferente al punto de ajuste del proceso. El estrés del pH puede ser perjudicial a baja concentración celular; el pH inicial podría estar entre pH 7.5 y el punto de ajuste del proceso. La agitación y el flujo de gas en el sistema durante la inoculación pueden ser diferentes de los puntos de ajuste del proceso. El estrés físico y químico debido a ambas condiciones puede ser perjudicial a baja concentración celular.

10 **[0349]** Las condiciones del proceso y los ajustes de control pueden influir en 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 rango óptimo de temperatura para el crecimiento puede variar con la cepa. El rango puede ser de 20-40 °C. El pH óptimo para el crecimiento celular y el rendimiento de la actividad aguas abajo pueden variar con la tensión. El rango puede ser pH 5-8. Los gases disueltos en el medio pueden ser utilizados por las células para el metabolismo. Puede ser necesario ajustar las variables de O₂, CO₂, y N₂ a lo largo del proceso. La disponibilidad de

15

20

25

30

nutrientes puede cambiar el crecimiento celular. Los microbios pueden tener una cinética alternativa cuando hay exceso de nutrientes disponibles.

5 **[0350]** El estado de los microbios al final de una fermentación y durante la cosecha puede afectar la supervivencia y la actividad celular. Los microbios pueden preacondicionarse poco antes de la cosecha para prepararlos mejor para las tensiones físicas y químicas involucradas en la separación y el procesamiento posterior. Un cambio de
10 temperatura (que a menudo se reduce hasta 20-5 °C) puede reducir el metabolismo celular, ralentizar el crecimiento (y/o la muerte) y el cambio fisiológico cuando se retira del fermentador. La eficacia de la concentración centrífuga puede estar influenciada por el pH del cultivo. Al elevar el pH en
15 1-2 puntos puede mejorar la eficacia de la concentración, pero también puede ser perjudicial para las células. Los microbios pueden estresarse poco antes de la cosecha al aumentar la concentración de sales y/o azúcares en el medio. Las células estresadas de esta manera pueden sobrevivir mejor a la
20 congelación y la liofilización durante el flujo descendente.

[0351] Los métodos de separación y la tecnología pueden afectar la eficiencia cómo los microbios se separan del medio de cultivo. Los sólidos pueden eliminarse mediante técnicas de centrifugación. La eficacia de la concentración centrífuga
25 puede verse influenciada por el pH del cultivo o por el uso de agentes floculantes. Al elevar el pH en 1-2 puntos puede mejorar la eficacia de la concentración, pero también puede ser perjudicial para las células. Los microbios pueden estresarse poco antes de la cosecha al aumentar la
30 concentración de sales y/o azúcares en el medio. Las células

estresadas de esta manera pueden sobrevivir mejor a la congelación y la liofilización durante el flujo descendente. Adicionalmente, los microbios también pueden separarse mediante filtración. La filtración es superior a las técnicas de centrifugación para la purificación si las células requieren un exceso de minutos g para centrifugarse con éxito. Pueden añadirse excipientes antes/después de la separación. Pueden añadirse excipientes para la crioprotección o para la protección durante la liofilización. Los excipientes pueden incluir, pero no se limitan a, sacarosa, trehalosa, o lactosa, y estos pueden mezclarse alternativamente con tampón y antioxidantes. Antes de la liofilización, las gotas de sedimentos de células mezcladas con excipientes se sumergen en nitrógeno líquido.

[0352] La colecta puede realizarse por centrifugación continua. Puede resuspenderse el producto con diversos excipientes a una concentración final deseada. Pueden añadirse excipientes para la crioprotección o para la protección durante la liofilización. Los excipientes pueden incluir, pero no se limitan a, sacarosa, trehalosa, o lactosa, y estos pueden mezclarse alternativamente con tampón y antioxidantes. Antes de la liofilización, las gotas de sedimentos de células mezcladas con excipientes se sumergen en nitrógeno líquido.

[0353] La liofilización del material, incluyendo las bacterias vivas, comienza con el secado primario. Durante la fase de secado primario, se elimina el hielo. Aquí, se genera un vacío y se suministra una cantidad apropiada de calor al material para que el hielo se sublime. Durante la fase de secado secundario, se eliminan las moléculas de agua unidas al producto. Aquí, la temperatura se eleva más que en la fase de

secado primario para romper cualquier interacción fisicoquímica que se haya formado entre las moléculas de agua y el material del producto. La presión también puede reducirse también para mejorar la desorción durante esta etapa. Tras completarse el proceso de liofilización, la cámara se puede cargarse con un gas inerte, tal como nitrógeno. El producto puede sellarse dentro del liofilizador en condiciones secas, evitando la exposición al agua atmosférica y contaminantes.

Ejemplo 22: La *Veillonella* administrada por vía intravenosa inhibe el crecimiento tumoral del carcinoma colorrectal

[0354] Los ratones Balb/c hembra de 6-8 semanas de vida se obtuvieron de Taconic (Germantown, NY). Se resuspendieron 100,000 células de tumor colorrectal CT-26 (ATCC CRL-2638) en PBS estéril y se inocularon en presencia de Matrigel al 50 %. Las células tumorales CT-26 se inyectaron por vía subcutánea en un flanco posterior de cada ratón. Cuando los volúmenes tumorales alcanzaron un promedio de 100 mm³ (aproximadamente 10-12 días tras la inoculación de las células tumorales), los animales se distribuyeron en los siguientes grupos: 1) Vehículo; 2) *Veillonella* cepa A; 3) *Veillonella* cepa B y 4) anticuerpo anti-PD-1. Los anticuerpos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) a 200 µg/ratón (volumen final de 100 µl) cada cuatro días, comenzando el día 1, durante un total de 3 veces (Q4Dx3) y las EV de *Veillonella* (5 µg) se inyectaron por vía intravenosa (i.v.) cada tres días, comenzando el día 1 durante un total de 4 veces (Q3Dx4). Ambos grupos de *Veillonella* demostraron una inhibición del crecimiento tumoral mayor que la vista en el grupo de anti-PD-1 (**Fig. 4 y 5**). Las EV se prepararon y se cuantificaron para el Ejemplo 27.

Ejemplo 23: La eficacia de las EV varía basándose en el microbio de origen, la dosis y la vía de administración

[0355] Los ratones Balb/c hembra de 6-8 semanas de vida se obtuvieron de Taconic (Germantown, NY). Se resuspendieron 100,000 células de tumor colorrectal CT-26 (ATCC CRL-2638) en PBS estéril y se inocularon en presencia de Matrigel al 50 %. Las células tumorales CT-26 se inyectaron por vía subcutánea en un flanco posterior de cada ratón. Cuando los volúmenes tumorales alcanzaron un promedio de 100 mm³ (aproximadamente 10-12 días tras la inoculación de las células tumorales), los animales se le distribuyeron en los siguientes grupos tal como se destaca en la Tabla 2.

Tabla 2: Grupos de Tratamiento

Grupo	Tratamiento	Dosis/Vía/Programación
1	Vehículo IV (PBS)	N/A / IV / Q3Dx4
2	Vehículo PO (sacarosa)	N/A / PO / QD
3	Anti-PD-1	200 µg / IP / Q4Dx3
4	EV de <i>Veillonella parvula</i> cepa B	10 µg / IV / Q3Dx4
5	EV de <i>Veillonella parvula</i> cepa B	5 µg / IV / Q3Dx4
6	EV de <i>Veillonella parvula</i> cepa B	2 µg / IV / Q3Dx4
7	EV de <i>Veillonella tobetsuensis</i> cepa A	75 µg / PO. QD
8	EV de <i>Veillonella tobetsuensis</i> cepa A	5 µg / IV / Q3Dx4

Tal como se indica en la tabla, los anticuerpos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) a 200 µg/ratón

(100 µg de volumen final) cada cuatro días, comenzando el día 1, durante un total de 3 veces (Q4Dx3) y las EV, cuando se administraron por vía intravenosa (i.v.) se inyectaron cada tres días, comenzando el día 1 durante un total de 4 veces (Q3Dx4). Los grupos de tratamiento administrados por la boca (p.o.) se administraron diariamente (QD). La eficacia de las EV de *Veillonella* varía basándose en el microbio fuente, la dosis y la vía de administración (Fig. 6 y 7).

Ejemplo 24: Inmunomodulación de bacterias comensales humanas en un modelo de hipersensibilidad de tipo retardado basado en KLH

[0356] Al igual que el Ejemplo 1, los ratones se sensibilizaron para KLH tal como se describe anteriormente, y los grupos recibieron *Veillonella* viva o irradiada (25 kGy). Los ratones recibieron vehículo, dexametasona, *Veillonella* cepa D irradiada (8.32×10^9 , 25 kGy), *Veillonella* cepa E irradiada (3.28×10^9 , 25 kGy), *Veillonella* cepa F irradiada (5.38×10^9 , 25 kGy) o *Veillonella* cepa G irradiada (2.01×10^9 , 25 kGy). Los ratones recibieron las dosis en los días 1-9, y se expusieron el día 8 con mediciones en la oreja tomadas el día 9 (24 horas) y en el día 10 (48 horas).

[0357] Tal como se muestra en la Fig. 8, las cepas de *Veillonella* irradiadas son eficaces en la reducción de la inflamación de la oreja a las 24 horas en comparación con el vehículo (control negativo). Como se muestra en la Fig. 9, los resultados de *Veillonella* cepas B, E, F y G reducen la inflamación de la oreja específica de antígeno a las 24 horas en comparación con el vehículo (control negativo) y la dexametasona antiinflamatoria (control positivo) después de la exposición al antígeno en un Modelo de hipersensibilidad de

tipo retardado basado en KLH. Ambas cepas B y E de *Veillonella* irradiadas fueron eficaces en la inhibición de la inflamación de la oreja, pero la cepa E de *Veillonella* irradiada fue incluso más eficaz que la cepa E viva. Para la cepa F de *Veillonella*, la irradiación gamma provocó que una cepa no funcional de *Veillonella* se volviera eficaz. Todos los grupos recibieron 10 mg del polvo por dosis.

Ejemplo 25: Generación de mutante LPS de *Veillonella*

[0358] La resistencia a antibióticos se puede clasificar como intrínseca, adquirida o adaptativa. La resistencia adaptativa se define como la reducción de la eliminación de antimicrobianos en poblaciones de bacterias que originalmente eran susceptibles a un agente antibiótico particular. Implica un aumento transitorio en la capacidad de las bacterias para sobrevivir al antibiótico, principalmente debido a alteraciones en los niveles de expresión de genes y/o proteínas desencadenados por condiciones ambientales como el estrés, las condiciones de nutrientes y los niveles subinhibitorios del antibiótico. A diferencia de los mecanismos de resistencia intrínsecos y adquiridos, que son estables y pueden transmitirse a la progenie, la resistencia adaptativa es transitoria y generalmente se pierde al eliminar el agente antibiótico. Se ha documentado este tipo de resistencia para aminoglucósidos y polimixinas (polimixina B y colistina) en bacterias, especialmente Gram negativas.

[0359] La resistencia adaptativa podría ser una de las razones del fenómeno de que los resultados de susceptibilidad de laboratorio no son congruentes con la efectividad clínica de los antibióticos. Se sabe que la resistencia a la polimixina en las bacterias es adaptativa, que se caracteriza por la

inducción de resistencia en presencia de fármaco y la reversión al fenotipo susceptible en su ausencia. Las polimixinas se unen al lipopolisacárido (LPS), el componente principal de la membrana externa en las bacterias Gram negativas, a través de interacciones con fosfatos y ácidos grasos del núcleo de LPS y restos de lípidos A. Estas interacciones posteriormente dan como resultado lisis y muerte celular.

[0360] La resistencia a la polimixina en bacterias Gram negativas se asocia con la adición de 4-amino-L-arabinosa (L-Ara4N) o fosfoetanolamina (pEtN) al lípido A y a los componentes centrales del oligosacárido. Esto da como resultado una reducción de la carga negativa neta de la membrana externa. Los sistemas reguladores de dos componentes (TCS) PhoP-PhoQ (PhoPQ) y PmrA-PmrB (PmrAB) juegan un papel importante en la modificación del lípido A, que posteriormente hace que las bacterias se vuelvan resistentes a las polimixinas. Además, las tasas de supervivencia de las bacterias que comprenden mutantes de delección (*lpxC* y/o *pmrB*), que están involucradas en la biosíntesis y modificación de LPS, disminuyeron > 4 veces cuando la colistina estaba presente en concentraciones subinhibitorias, en comparación con las de sus originales de TS.

[0361] La evolución de la resistencia a la colistina se debe a la modificación del lípido A en LPS. Esto da como resultado una reducción de la carga neta de la membrana externa. Se sabe que esta modificación está regulada por varios sistemas de dos componentes (TCS), incluidos PhoPQ, PmrAB, ParRS y CprRS. Se ha informado de la pérdida de LPS debido a mutaciones o interrupción de genes involucrados en la biosíntesis de lípidos A, como *lpxA*, *lpxC* y *lpxD*.

[0362] Los mutantes de LPS de *Veillonella* se generan por pases seriados en presencia de colistina utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia (JY Lee et al. Sci Rep. 2016 6 de mayo; 6:25543).

5 [0363] Por ejemplo, los cultivos de *Veillonella* se cultivan habitualmente en placas de agar BRU (sistemas anaeróbicos) a 37 ° C durante 2-4 días. Los cultivos de *Veillonella* se cultivan en medio líquido en presencia de un intervalo de concentración de colistina (0.1 a 16 mg/l) durante
10 1 a 3 días para determinar la concentración inhibitoria mínima de colistina. Los cultivos de *Veillonella* se cultivan en medio líquido en presencia de una concentración de colistina subinhibitoria (es decir, una concentración inhibitoria inferior a la mínima) durante 1 a 3 días para permitir el
15 crecimiento bacteriano. Los cultivos crecidos se diluyen de 25 a 50 veces en medio reciente que contiene una concentración 2 veces mayor de colistina. Cada medio de cultivo bacteriano contenía 0.13, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 o 256
20 mg/l de colistina como cultivos bacterianos pasados en serie durante 10-14 generaciones. Cuando los cultivos bacterianos no pueden crecer en medio líquido con una concentración 2 veces mayor de colistina, los cultivos se colocan en placas sobre
25 placas de agar BRU y se dejan crecer durante 2-4 días. Las colonias bacterianas se sacan de las placas para iniciar los cultivos en medio líquido que contiene colistina a una concentración que permite el crecimiento bacteriano. Los pasos en serie se repiten hasta que las bacterias sean resistentes a la colistina a concentraciones > 250 mg/l. Después del último
30 paso, se cultivan colonias bacterianas en placas BRU que contienen 100 mg/l de colistina y se seleccionan varias

colonias individuales para el análisis de lipopolisacárido (LPS).

[0364] Los clones de *Veillonella* resistentes a la colistina se seleccionan para el análisis de LPS. Los métodos analíticos incluyen el análisis SDS-PAGE seguido de la tinción ProQ LPS (Invitrogen), el análisis de endotoxinas LAL cromogénicas (GeneScript), el análisis de lípidos A mediante el análisis MALDI-TOF MS (Bruker).

Ejemplo 26: Preparación y purificación de EV a partir de bacterias

[0365] Las vesículas extracelulares (EV) se preparan a partir de cultivos bacterianos utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia (S. Bin Park, et al. PLoS ONE. 6(3):e17629 (2011)).

[0366] Por ejemplo, los cultivos bacterianos se centrifugan a 11,000 x g durante 20-40 min a 4 °C para sedimentar las bacterias. Los sobrenadantes de cultivo se pasan luego a través de un filtro de 0.22 µm para excluir las células bacterianas intactas. Los sobrenadantes filtrados se concentran usando métodos que pueden incluir, entre otros, precipitación con sulfato de amonio, ultracentrifugación o filtración. Brevemente, para la precipitación con sulfato de amonio, se agrega sulfato de amonio 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 EV bacterianos y otros restos. Brevemente, usando ultracentrifugación, 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 EV bacterianos y

otros restos. Brevemente, usando una técnica de filtración, usando un filtro giratorio Amicon Ultra o por filtración de flujo tangencial, los sobrenadantes se filtran para retener especies de peso molecular > 50 o 100 kDa.

5 **[0367]** Como alternativa, las EV se obtienen de cultivos bacterianos de manera continua durante el crecimiento, o en puntos de tiempo seleccionados durante el crecimiento, conectando un biorreactor a un sistema de flujo tangencial alternativo (ATF) (por ejemplo, XCell ATF de Repligen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El sistema ATF conserva las células intactas (>0.22 μ m) en el biorreactor, y permite que los componentes de menor tamaño (por ejemplo, EV, proteínas libres) pasen a través de un filtro para su recolección. Por ejemplo, se puede configurar el sistema para que el filtrado de <0.22 μ m pase luego a través de un segundo filtro de 100 kDa, permitiendo que especies tales como las EV entre 0.22 μ m y 100 kDa se recolecten, y que especies más pequeñas de 100 kDa se bombeen de vuelta al biorreactor. Como alternativa, se puede configurar el sistema para que permita que el medio en el biorreactor se reponga y/o se modifique durante el crecimiento del cultivo. Las EV recolectadas mediante este método se pueden purificar adicionalmente y/o concentrar mediante ultracentrifugación o filtración tal como se describe anteriormente para los sobrenadantes filtrados.

25 **[0368]** Las EV obtenidas mediante los métodos descritos anteriormente pueden purificarse adicionalmente mediante ultracentrifugación en gradiente, utilizando métodos que pueden incluir, pero no se limitan a, el uso de un gradiente de sacarosa o un gradiente Optiprep. En resumen, al usar un método de gradiente de sacarosa, si se usaran precipitación o

ultracentrifugación de sulfato de amonio para concentrar los sobrenadantes filtrados, se resuspenden los sedimentos en el 60% de sacarosa, Tris 30 mM, pH 8.0. Si se usó filtración para concentrar el sobrenadante filtrado, el concentrado se intercambia en tampón al 60% de sacarosa, Tris 30 mM, pH 8.0, usando una columna Amicon Ultra. Se aplican las muestras 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 resumen, al usar un método de gradiente Optiprep, si se usara precipitación o ultracentrifugación de sulfato de amonio para concentrar los sobrenadantes filtrados, se resuspenden los sedimentos 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 final de Optiprep al 35 %. Se aplican las muestras a un gradiente de sacarosa discontinuo al 35-60% y se centrifugan a 200,000 x g durante 3-24 horas a 4°C.

[0369] Para confirmar la esterilidad y el aislamiento de las preparaciones de EV, las EV se diluyen en serie en medio de agar utilizado para el cultivo convencional de la bacteria que se está probando, y se incuban en condiciones habituales. Se hacen pasar preparaciones no estériles a través de un filtro de 0.22 um para excluir células intactas. Para aumentar adicionalmente la pureza, las EV aisladas pueden tratarse con DNasa o proteinasa K.

[0370] Como alternativa, para la preparación de EV usadas para inyecciones in vivo, las EV purificadas se procesan como se describió previamente (G. Norheim, et al. PLoS ONE. 10(9): e0134353 (2015)). Brevemente, después de la centrifugación de gradiente de sacarosa, las bandas que

contienen las EV se resuspenden a una concentración final de 50 µg/ml en una solución que contiene sacarosa al 3 % u otra solución adecuada para la inyección in vivo conocida para un experto en la materia. Esta solución también puede contener adyuvante, por ejemplo, hidróxido de aluminio a una concentración del 0-0.5 % (p/v).

[0371] Para hacer que las muestras sean compatibles con otras pruebas (por ejemplo, para eliminar la sacarosa antes de la obtención de imágenes al MET o ensayos in vitro), las muestras se intercambian con tampón en PBS o Tris 30 mM, a pH 8.0 usando filtración (por ejemplo, columnas Amicon Ultra), diálisis o ultracentrifugación (200,000 x g, ≥ 3 horas, 4°C) y resuspensión.

Ejemplo 27: Preparación y purificación de EV de Veillonella a partir de bacterias

Método de preparación:

[0372] Los cultivos bacterianos se centrifugaron a 10,000 - 16,000 x g durante 10-15 minutos a 4 °C, 10 °C o temperatura ambiente para sedimentar las bacterias. Los sobrenadantes de cultivo se filtraron a ≤ 0.22 µm para excluir las células bacterianas intactas. Los sobrenadantes filtrados se concentraron y el tampón se intercambió en PBS por filtración de flujo tangencial, reteniendo especies > 100 kDa. Los sobrenadantes se filtraron nuevamente a ≤ 0.22 µm y las EV se sedimentaron por ultracentrifugación a 200,000 x g durante 1 hora a 4 °C. Los sedimentos se resuspendieron en PBS y se purificaron adicionalmente por ultracentrifugación en gradiente. Las muestras se diluyeron a Optiprep al 45 % con 3 volúmenes de Optiprep al 60 % y se aplicaron al fondo de un gradiente de Optiprep discontinuo al 0-45 %. Los gradientes se

centrifugaron a 200,000 x g durante 4-24 horas a 4 °C. Se eliminaron las fracciones que contenían EV por encima del nivel de la muestra original, se diluyeron al menos 15 veces con PBS y se sedimentaron por ultracentrifugación a 200,000 x g durante 1 hora a 4 °C. Los sedimentos se resuspendieron en PBS. Antes de la administración in vivo, las muestras se filtraron estérilmente a $\leq 0.22 \mu\text{m}$.

Cuantificación:

[0373] La dosificación de los EV se basó en el recuento de partículas, según lo evaluado por el Análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA) utilizando un NanoSight NS300 (Malvern Panalytical) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los recuentos para cada muestra se basaron en al menos tres videos de 30 segundos de duración cada uno, contando 40-140 partículas por cuadro, con una velocidad de bomba de jeringa de 75. Las cantidades de proteínas también se rastrearon y cuantificaron por dosis para cada preparación de EV. La proteína total se cuantificó mediante ensayos de Bradford utilizando el reactivo colorante Quick Start Bradford 1x (Bio-Rad) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Ejemplo 28: Preparación de bacterias *Veillonella*

Preparación de alimentación para el proceso de alimentación por lotes

Componentes	Para 3 litros (g)
Extracto de levadura 19512 Organotechnie S.A.S.	300
Peptona de soja E110 19885 Organotechnie S.A.S.	300
Peptona de patata E210 19425 Organotechnie S.A.S.	150
Peptona de soja A3 SC 19685 Organotechnie S.A.S.	300

[0374] Se calientan 3 litros de agua DI en el microondas durante aproximadamente 6 minutos (a 50-60 °C). Los niveles de 2 litros y 3 litros en el vaso de precipitados de 5 litros están marcados. Se añaden 2 litros de agua DI al vaso de precipitados, con el imán más grande. El calentador y el agitador (200 rpm) están encendidos. La temperatura de la solución se mantiene entre 50-60 ° C durante la mezcla. Los componentes de la tabla anterior se agregan uno por uno. Se agregan 100 g como máximo cada vez, hasta que se disuelva completamente antes de agregar el siguiente componente. Después de agregar el último componente, disuélvalo completamente durante al menos 30 minutos. El volumen final es de aproximadamente 2800 ml. La solución se filtra esterilizada. Se utilizan frascos estériles de 1 litro (945 ml de la solución en frasco de 1 litro x3). Se agregan 55 ml de L-lactato de odio al 60 % (para obtener 33 g/l de lactato en la alimentación) a cada botella de forma aséptica.

[0375] Los reservorios de L-lactato de sodio se preparan y esterilizan por adelantado.

Preparación de inóculo a partir del reservorio congelado:

[0376] La PM11 (con 5 g/l de L-lactato de sodio) se prepara por adelantado siguiendo el protocolo de preparación de medios PM11. Los medios se transfieren al reservado y se desgasifican durante la noche antes de la inoculación. El vial congelado se transfiere al reservado. Su tapa se limpia con una toallita de etanol. Después de descongelar el vial, se agita suavemente en vórtice y se transfiere 1 ml del reservorio al 1 litro de medio PM11 inmediatamente (inóculo al 0.1 %). Los medios se incuban a 37 °C toda la noche. La calidad del

inóculo determina el tiempo de incubación. Por lo tanto, al menos en las primeras dos ejecuciones, se recomienda seguir el crecimiento para tener una idea sobre la etapa de inóculo. El punto de recolección es muy crucial para el inóculo. El inóculo debe estar en fase exponencial media o tardía.

[0377] Medios PM11 (esterilización por filtro)

PM11	g/l
L-Lactato de sodio	5
Extracto de levadura 19512 Organotechnie S.A.S.	10
Peptona de soja E110 19885 Organotechnie S.A.S.	10
Peptona de patata E210 19425 Organotechnie S.A.S.	5
Peptona de soja A3 SC 19685 Organotechnie S.A.S.	10
Fosfato de dipotasio K2HP04	5.03
Fosfato de monopotasio KH2P04	2.87
L-Cisteína-HCl	0.5
Citrato de trisodio	5
Cloruro de magnesio	0.5
Cloruro de manganeso	0.1

Componentes del Grupo 1	g por litro
Extracto de levadura 19512 Organotechnie S.A.S.	10
Peptona de soja E110 19885 Organotechnie S.A.S.	10
Peptona de soja A3 SC 19685 Organotechnie S.A.S.	10
Peptona de patata E210 19425 Organotechnie S.A.S.	5
Fosfato de dipotasio K2HP04	5.03
Fosfato de monopotasio KH2P04	2.87
Citrato de trisodio	5

L-Lactato de sodio	5
--------------------	---

Preparación del medio:

[0378] El vaso de precipitados de 2 litros se coloca en una balanza y tara y se llena con 800 g de agua. Se coloca un imán y comienza la agitación. Se pesa cada uno de los componentes del Grupo 1, excepto el L-Lactato de sodio. Cada componente, excepto el L-lactato de sodio, se agrega uno por uno al recipiente de mezcla, asegurándose de que cada componente se disuelva totalmente antes de agregar el siguiente componente. Una vez que todos los sólidos se han disuelto completamente, el agitador se detiene. QS a una masa de 1 kg con agua desionizada. La mezcla se esteriliza por filtración con un filtro de grado de esterilización de 0.2µm. Se esterilizan en autoclave 500 ml de ácido L-lactato de sodio a 121 °C durante 30 minutos. Se añaden 10 ml de la solución del Grupo 2 al grupo y se mezclan asépticamente. Se añaden asépticamente 8.3 ml de L-lactato de sodio esterilizado a la mezcla. Los medios se etiquetan y se transfieren al reservado. Afloje su tapa y deje que se desgasifique durante la noche.

Componentes del Grupo 2	G para 1 litro
L-Cisteína-HCl	50
Cloruro de magnesio	50
Cloruro de manganeso	10

Preparación del grupo 2:

[0379] Se añaden aproximadamente 700 ml en un vaso de precipitados de 1 litro y se colocan en una placa caliente y se calientan a 50°C. Cada uno de los componentes del Grupo 2 se pesan. Los componentes se agregan uno por uno asegurándose de que cada componente esté totalmente disuelto antes de

agregar el siguiente componente. Una vez que todo se disuelve, usando un cilindro de vidrio de 1 litro, QS a 1 litro y esterilizado por filtración con filtro de 0.2 μm . Etiquetar con nombre y fecha de preparación. La botella mediana se envuelve en papel de aluminio y se transfiere a un reservado, déjelo durante un máximo de 2 meses.

Ejemplo 29: Las VE de Veillonella administradas por vía intravenosa inhiben el crecimiento tumoral del carcinoma colorrectal

[0380] Los ratones Balb/c hembra de 6-8 semanas de vida se obtuvieron de Taconic (Germantown, NY). Se resuspendieron 100,000 células de tumor colorrectal CT-26 (ATCC CRL-2638) en PBS estéril y se inocularon en presencia de Matrigel al 50 %. Las células tumorales CT-26 se inyectaron por vía subcutánea en un flanco posterior de cada ratón. Cuando los volúmenes tumorales alcanzaron un promedio de 100 mm^3 (aproximadamente 10-12 días tras la inoculación de las células tumorales), los animales se distribuyeron en los siguientes grupos: 1) vehículo; 2) anticuerpo anti-PD-1; 3) EV de V. parvula Cepa A $7.0\text{e} + 10$ partículas, 4) EV de V. atypica Cepa A $2.0\text{e} + 11$ partículas, 5) EV de V. atypica Cepa A $7.0\text{e} + 10$ partículas, y 5) EV de V. atypica Cepa B $1.5\text{e} + 10$ partículas. Los anticuerpos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) a 200 $\mu\text{g}/\text{ratón}$ (100 μl de volumen final) cada cuatro días, comenzando el día 1 (IP Q4Dx3) y EV de *Veillonella* ($7.0\text{e}+10$, $2.0\text{e} +11$ o $1.5\text{e}+10$ partículas) fueron administrados por vía intravenosa (IV) diariamente (IV Q3Dx4), comenzando el día 1 hasta la conclusión del estudio. El grupo de *Veillonella* mostró una inhibición del crecimiento tumoral comparable o más significativa a la

observada en el grupo anti-PD-1 (**Fig. 14 y 15**). Las EV se prepararon y se cuantificaron para el Ejemplo 27.

Grupo	Tratamiento	Tinci ^{ón} n Gram	Dosis (recuento de partícula s)	Dosis (ug de proteín a)	Vía, Pauta
1 (n=10)	Vehículo (PBS)	N.A.	N.A.	-	IV Q3Dx4
2 (n=10)	Anti-PD-1	N.A.	200ug	-	IP Q4Dx3
3 (n=10)	EEV <i>V. parvula</i> Cepa A 7.0e+10PC	-	7.0e+10 partícula s (con menos proteínas totales)	1.41	IV Q3Dx4
4 (n=8)	EEV <i>V. atypica</i> Cepa A 2.0e+11PC	-	2.0e+11 partícula s	9.94	IV Q3Dx4
5 (n=8)	EEV <i>V. atypica</i> Cepa A 7.0e+10PC	-	7.0e+10 partícula s	3.48	IV Q3Dx4
6 (n=10)	EEV <i>V. atypica</i> Cepa B 1.5e+10PC	-	1.5e+10 partícula s	5.00	IV Q3Dx4

Incorporación como Referencia

[0381] Todas las publicaciones de solicitudes de patente mencionadas en el presente documento se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad como si cada publicación individual o solicitud de patente se indicara específica e individualmente que va a incorporarse como referencia. En caso de conflicto, prevalecerá la presente solicitud, incluyendo cualquier definición en el presente documento.

Equivalentes

Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar usando no más que la experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descrita en el presente documento. Tales equivalentes
5 pretenden abarcarse por las siguientes reivindicaciones.

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 presente
10 descripción de la invención.

10

15

20

25

30

Reivindicaciones:

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

5 1. Un método para tratar una enfermedad en un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición bacteriana que comprende una bacteria de *Veillonella*.

10 2. El método de la reivindicación 1, en donde la bacteria es una cepa que comprende al menos el 90 % de identidad de secuencia genómica, 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

15 3. El método de la reivindicación 1, en donde la bacteria es una cepa que comprende al menos el 99 % de identidad de secuencia genómica, 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

 4. El método de la reivindicación 1, en donde la bacteria es una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

20 5. El método de la reivindicación 1, donde la composición bacteriana comprende vesículas extracelulares (EV) de *Veillonella* aisladas.

25 6. El método de la reivindicación 5, en donde la composición bacteriana comprende vesículas extracelulares (EV) de *Veillonella* y bacterias de *Veillonella*.

30 7. El método de la reivindicación 6, en donde al menos aproximadamente, o 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%, 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% del total de las EV de *Veillonella*
5 y de las partículas de bacterias de *Veillonella* en la
composición farmacéutica son EV de *Veillonella*.

8. El método de la reivindicación 6, en donde al menos
aproximadamente, o no más del 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%,
10 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%,
15 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% del total de las EV de *Veillonella*
y de las partículas de bacterias en la composición farmacéutica
son bacterias de *Veillonella*.

9. El método de la reivindicación 6, en donde al menos
aproximadamente, o 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%,
25 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% del total de las EV de *Veillonella*
30 y de proteínas de la bacteria inmunomoduladora de *Veillonella*

en la composición farmacéutica, es la proteína de EV de *Veillonella*.

10. El método de la reivindicación 6, en donde al menos
5 aproximadamente, o 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%, 54%, 55%, 56%, 57%,
10 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% del total de las EV de *Veillonella*
y de proteínas de la bacteria *Veillonella* en la composición
15 farmacéutica es una proteína de la bacteria de *Veillonella*.

11. El método de la reivindicación 6, en donde al menos
aproximadamente, o 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%,
20 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%,
25 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de EV de *Veillonella* y de los
lípidos de las bacterias en la composición farmacéutica son
lípidos de EV de *Veillonella*.

12. El método de la reivindicación 6, La composición
bacteriana de la reivindicación 103, en donde al menos
30 aproximadamente, o 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%, 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% del total de las EV de *Veillonella* y de los lípidos bacterianos de *Veillonella* en la composición farmacéutica, son lípidos de bacterias de *Veillonella*.

13. El método de la reivindicación 1, en donde la composición bacteriana comprende bacterias de *Veillonella* aisladas de las EV.

14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la enfermedad es un trastorno inmunitario.

15. El método de la reivindicación 14, en donde el trastorno inmunitario se selecciona de, una reacción alérgica, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, hipersensibilidad de tipo retardado, miocarditis autoinmune, granulomas, neuropatías periféricas, tiroiditis de Hashimoto, inflamación del colon, colitis, colitis microscópica, colitis colagenosa, colitis por derivación, colitis química, colitis isquémica, colitis indeterminada, colitis atípica, esclerosis múltiple, enfermedad de Hashimoto, una enfermedad alérgica, alergia alimentaria, polenosis, asma, una enfermedad infecciosa, una infección por *Clostridium difficile*, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad inflamatoria mediada por TNF, una enfermedad inflamatoria del tracto

gastrointestinal, reservoritis, una enfermedad inflamatoria cardiovascular, aterosclerosis, una enfermedad pulmonar inflamatoria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, artritis, artrosis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, artritis infecciosa aguda y crónica, artritis asociada con gota y pseudogota, artritis idiopática juvenil, tendinitis, sinovitis, tenosinovitis, bursitis, fibrositis, fibromialgia, epicondilitis, miositis y osteítis, enfermedad de Paget, osteítis del pubis, osteítis fibrosa quística, trastornos inmunes oculares, blefaritis, blefaroclasia, conjuntivitis, dacrioadenitis, queratitis, queratoconjuntivitis seca (ojo seco), escleritis, triquiasis, uveítis, sistema nervioso inmune, encefalitis, síndrome de Guillain-Barré, meningitis, neuromiotonía, narcolepsia, esclerosis múltiple, mielitis, esquizofrenia, inflamación del sistema vascular o linfático, artrosclerosis, artritis, flebitis, vasculitis, linfangitis, trastornos inmunes del sistema digestivo, colangitis, coleocistitis, enteritis, enterocolitis, gastritis, gastroenteritis, ileítis, proctitis, síndrome del intestino irritable, colitis microscópica, enteritis linfocítica-plasmocítica, celiaquía, colitis colagenosa, colitis linfocítica, enterocolitis eosinofílica, colitis indeterminada, colitis pseudomembranosa (colitis necrosante), enfermedad inflamatoria isquémica del intestino, enfermedad de Behcet, sarcoidosis, esclerodermia, displasia asociada a EII, masas o lesiones asociadas a displasia, colangitis esclerosante primaria, trastornos inmunes del sistema reproductivo, cervicitis, corioamnionitis, endometritis, epididimitis, onfalitis, ooforitis, orquitis, salpingitis, absceso tuboovárico, uretritis, vaginitis,

vulvitis, vulvodinia, afecciones autoinmunes, alopecia universal diseminada aguda, enfermedad de Behcet, enfermedad de Chagas, síndrome de fatiga crónica, disautonomía, encefalomielitis, espondilitis anquilosante, anemia aplásica, hidradenitis supurativa, hepatitis autoinmune, ooforitis autoinmune, celiacía, diabetes mellitus tipo 1, arteritis de células gigantes, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Grave, síndrome de Guillain-Barré, púrpura de Henoch-Schonlein, enfermedad de Kawasaki, lupus eritematoso, colitis microscópica, poliarteritis microscópica, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de Muckle-Wells, esclerosis múltiple, miastenia gravis, síndrome opsoclono mioclono, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo, poliarteritis nodosa, polimialgia, artritis reumatoide, síndrome de Reiter, síndrome de Sjogren, arteritis temporal, granulomatosis de Wegener, anemia hemolítica autoinmune cálida, cistitis intersticial, psoriasis, sarcoidosis, esclerodermia, colitis ulcerosa, vitíligo, enfermedades de hipersensibilidad mediada por linfocitos T, hipersensibilidad de contacto, dermatitis de contacto, urticaria, alergias cutáneas, alergias respiratorias, fiebre del heno, rinitis alérgica, alergia al polvo doméstico, enteropatía sensible al gluten, celiacía, apendicitis, dermatitis, dermatomiositis, endocarditis, fibrositis, gingivitis, glositis, hepatitis, hidradenitis supurativa, iritis, laringitis, mastitis, miocarditis, nefritis, otitis, pancreatitis, parotitis, pericarditis, peritonitis, faringitis, pleuritis, neumonitis, prostatitis, pielonefritis, estomatitis, rechazo de trasplante, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda, síndrome de Sexary, hiperplasia

suprarrenal congénita, tiroiditis no supurativa, hipercalcemia asociada con cáncer, pénfigo, dermatitis ampollosa herpetiforme, eritema multiforme severo, dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, rinitis alérgica estacional o perenne, asma bronquial, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, reacciones de hipersensibilidad a medicamentos, conjuntivitis alérgica, queratitis, herpes zoster oftálmico, iritis y oiridociclitis, coriorretinitis, neuritis óptica, sarcoidosis sintomática, quimioterapia en tuberculosis pulmonar fulminante o diseminada, púrpura trombocitopénica idiopática en adultos, trombocitopenia secundaria en adultos, anemia hemolítica adquirida (autoinmune), leucemia y linfomas en adultos, leucemia aguda de la infancia, enteritis regional, vasculitis autoinmune, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rechazo de trasplante de órganos sólidos, septicemia, artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, diabetes tipo 1, asma, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, inflamación que acompaña a afecciones infecciosas y septicemia.

16. El método de la reivindicación 14, en donde el trastorno inmunitario es hipersensibilidad de tipo retardado, dermatitis alérgica de contacto, miocarditis autoinmune, diabetes mellitus tipo 1, granulomas, neuropatías periféricas, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, inflamación del colon, colitis, colitis ulcerosa, colitis microscópica, colitis colagenosa, colitis por derivación, colitis química, colitis isquémica, colitis

indeterminada, colitis atípica, enfermedades digestivas, enfermedad de Crohn o enfermedad inflamatoria intestinal.

17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la enfermedad es cáncer.

18. El método de cualquier reivindicación 17, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en neoplasia hematológica, leucemia no linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia granulocítica crónica, leucemia promielocítica aguda, leucemia de linfocitos T adultos, leucemia aleucémica, una leucemia leucocitémica, leucemia basófila, leucemia de células blásticas, leucemia 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 de células indiferenciadas, tricoleucemia, leucemia hemoblástica, leucemia hemocitoblástica, leucemia histiocítica, leucemia de células madre, leucemia monocítica aguda, leucemia leucopénica, leucemia linfática, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia linfogénica, leucemia linfoide, leucemia de células de linfosarcoma, leucemia de mastocitos, leucemia megacariocítica, leucemia micromieloblástica, leucemia monocítica, leucemia mieloblástica, leucemia mielocítica, leucemia mieloide granulocítica, leucemia mielomonocítica, leucemia de Naegeli, leucemia de células plasmáticas, leucemia plasmocítica, leucemia promielocítica, carcinoma acinar, carcinoma acinoso, carcinoma adenoquístico, carcinoma adenoide quístico, carcinoma adenomatoso, carcinoma de corteza adrenal, carcinoma alveolar, carcinoma de células alveolares, carcinoma de células

basales, carcinoma basocelular, carcinoma basaloide, carcinoma de células basoescamosas, carcinoma bronquioalveolar, carcinoma bronquiolar, carcinoma broncogénico, carcinoma cerebriforme, carcinoma colangiocelular, carcinoma coriónico, carcinoma coloide, comedocarcinoma, carcinoma corpus, carcinoma cribiforme, carcinoma en cuirasse, carcinoma cutaneum, carcinoma cilíndrico, carcinoma de células cilíndricas, carcinoma de los conductos, carcinoma durum, carcinoma embrionario, carcinoma encefaloide, carcinoma epienoide, carcinoma epitelial adenoide, carcinoma exofítico, carcinoma ex ulcera, carcinoma fibroso, carcinoma gelatiniforme, carcinoma gelatinoso, carcinoma de células gigantes, carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma simple, carcinoma de células pequeñas, carcinoma solanoide, carcinoma de células esferoidales, carcinoma de células fusiformes, carcinoma esponjoso, carcinoma escamoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma de cuerdas, carcinoma telangiectático, carcinoma telangiectóide, carcinoma de células transicionales, carcinoma tuberoso, carcinoma tuberoso, carcinoma verrugoso, carcinoma velloso, carcinoma gigantocelular, carcinoma glandular, carcinoma de células de la granulosa, carcinoma de matriz capilar, carcinoma hematoide, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células de Hurthle, carcinoma hialino, carcinoma hipernefroide, carcinoma embrionario infantil, carcinoma in situ, carcinoma intraepidérmico, carcinoma intraepitelial, carcinoma de Krompecher, carcinoma de células Kulchitzky, carcinoma de células grandes, carcinoma lenticular, carcinoma lenticular, carcinoma lipomatoso, carcinoma linfoepitelial, carcinoma medular, carcinoma melanótico, carcinoma molle, carcinoma

mucinoso, carcinoma muciparum, carcinoma mucocelular, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma mucoso, carcinoma mucoso, carcinoma mixomatoso, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma de células de Oat, carcinoma osificante, carcinoma osteoide, carcinoma papilar, carcinoma periportal, carcinoma preinvasivo, carcinoma de células espinosas, carcinoma pultaceo, carcinoma de células renales de riñón, carcinoma de células de reserva, carcinoma sarcomatoide, carcinoma de schneider, carcinoma escirroso, carcinoma de escroto, condrosarcoma, fibrosarcoma, linfossarcoma, melanosarcoma, mixosarcoma, osteosarcoma, sarcoma endometrial, sarcoma del estroma, sarcoma de Ewing, sarcoma fascial, sarcoma fibroblástico, sarcoma de células gigantes, sarcoma de Abemethy, sarcoma adiposo, liposarcoma, sarcoma de parte blanda alveolar, sarcoma ameloblástico, sarcoma botrioide, sarcoma de cloroma, coriocarcinoma, sarcoma embrionario, sarcoma tumoral de Wilms, sarcoma granulocítico, sarcoma de Hodgkin, sarcoma hemorrágico pigmentado idiopático múltiple, 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 de mesenquimoma maligno, sarcoma parosteal, sarcoma reticulocítico, sarcoma de Rous, sarcoma seroquístico, sarcoma sinovial, sarcoma telangiectático, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, rabdomiosarcoma, trombocitosis primaria, macroglobulinemia primaria, tumor pulmonar microcítico, tumores cerebrales primarios, cáncer de estómago, cáncer de colon, insulinoide pancreático maligno, carcinoide maligno,

lesiones cutáneas premalignas, cáncer testicular, linfomas, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer esofágico, cáncer del tracto genitourinario, hipercalcemia maligna, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer cortical suprarrenal, melanoma de Harding-Passey, melanoma juvenil, melanoma lentigo maligno, melanoma maligno, melanoma acral-lentiginoso, melanoma amelanótico, melanoma juvenil benigno, melanoma de Cloudman, melanoma S91, melanoma nodular, melanoma subgénico y melanoma de extensión superficial.

19. El método de cualquier reivindicación precedente, en donde la composición bacteriana se administra por vía oral, rectal, intravenosa, intratumoral o subcutánea.

20. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 19, en donde al menos el 50 % de las bacterias en la composición bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

21. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 19, en donde al menos el 90 % de las bacterias en la composición bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

22. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 19, en donde sustancialmente todas las bacterias en la composición bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

23. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 22, en donde la composición bacteriana comprende al menos 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC) de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

24. El método de la reivindicación 23, en donde la composición bacteriana comprende al menos 1×10^7 UFC de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

5

25. El método de la reivindicación 23, en donde la composición bacteriana comprende al menos 1×10^8 UFC de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

10

26. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en donde la composición bacteriana se administra en dos o más dosis.

27. El método de la reivindicación 26, en donde la administración al sujeto de las dos o más dosis están separadas por al menos 1 día.

15

28. El método de la reivindicación 27, en donde la administración de las dos o más dosis están separadas por al menos 1 semana.

20

29. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 28, en donde la composición bacteriana comprende bacterias vivas.

30. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 28, en donde la composición bacteriana comprende bacterias atenuadas.

25

31. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 30, en donde la composición bacteriana comprende bacterias muertas.

32. El método de la reivindicación 31, en donde la composición bacteriana comprende bacterias irradiadas.

30

33. El método de la reivindicación 31, en donde la composición bacteriana comprende bacterias irradiadas con rayos gamma.

5 34. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-33, en donde la bacteria *Veillonella* es resistente a la polimixina.

35. El método de la reivindicación 34, en donde la polimaxina es polimixina B o colistina.

10 36. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-35, en donde la bacteria *Veillonella* comprende LPS mutante.

37. El método de la reivindicación 36, en donde el LPS mutante es una mutación o alteración en un gen implicado en la biosíntesis de lípido A.

15 38. El método de la reivindicación 37, en donde el gen es *lpxA*, *lpxC* o *lpxD*.

39. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 y 19 a 38, en donde la administración de la composición bacteriana trata el trastorno inmunitario.

20

40. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 y 19 a 40, en donde la administración de la composición bacteriana induce una respuesta inmunitaria.

25 41. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, en donde el método comprende además administrar al sujeto un agente terapéutico adicional.

42. El método de la reivindicación 41, en donde el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un agente inmunosupresor, un DMARD, un fármaco de control del dolor, un esteroide, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo

30

(AINE), un antagonista de citocina, ciclosporina, retinoides, corticosteroides, derivado de ácido propiónico, derivado de ácido acético, derivados de ácido enólico, derivados de ácido fenámico, inhibidores de Cox-2, lumiracoxib, ibuprofeno, salicilato de colina de magnesio, fenoprofeno, salsalato, difunisal, tolmetina, ketoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, indometacina, sulindac, etodolac, ketorolac, nabumetona, naproxeno, valdecoxib, etoricoxib, MK0966; rofecoxib, acetaminofeno, Celecoxib, Diclofenaco, tramadol, piroxicam, meloxicam, tenoxicam, droxicam, lornoxicam, isoxicam, ácido mefanámico, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, tolfenámico, valdecoxib, parecoxib, etodolac, indometacina, aspirina, ibuprofeno, firocoxib, metotrexato (MTX), fármacos antimalaria, hidroxiclороquina, cloroquina, sulfasalazina, Leflunomida, azatioprina, ciclosporina, sales de oro, minociclina, ciclofosfamida, D-penicilamina, minociclina, auranofina, tacrolimus, miocrisina, clorambucil, antagonistas de TNF alfa, antagonistas de TNF alfa, antagonistas del receptor de TNF alfa, ADALIMUMAB (Humira®), ETANERCEPT (Enbrel®), INFLIXIMAB (Remicade®; TA-650), CERTOLIZUMAB PEGOL (Cimzia®; CDP870), GOLIMUMAB (Simpom®; CNTO 148), ANAKINRA (Kineret®), RITUXIMAB (Rituxan®; MabThera®), ABATACEPT (Orencia®), 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 de BlyS, Atacicept, 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, triamcinolona, beclometasona, fludrocortisona, desoxicorticosterona, aldosterona, doxiciclina, vancomicina, pioglitazona, SBI-087, SCIO-469, Cura-100, Oncoxin + Viusid, TwHF, Methoxsalen, Vitamina D - ergocalciferol, Milnacipran, Paclitaxel, rosiglitazona, Tacrolimus, Prograf®, RAD001, rapamune, rapamicina, fostamatinib, Fentanilo, XOMA 052, Fostamatinib disodio, rosiglitazona, Curcumina, Longvida™, Rosuvastatina, Maraviroc, ramipril, Milnacipran, Cobiprostona, somatropina, vector de terapia génica tgAAC94, MK0359, GW856553, inhibidores de esomeprazol, everolimus, trastuzumab, inhibidores de JAK1 y JAK2, inhibidores pan JAK, p. Ej., Piridona 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 integrinas, Tysabri® (natalizumab), antagonistas de VEGF, antagonistas de CXCL, antagonistas de MMP, antagonistas de defensina, Antagonistas de IL-1, antagonistas de IL-1 beta, antagonistas de IL-23, señuelos del receptor, anticuerpos antagonistas, corticosteroides, mesalazina, mesalamina, sulfasalazina, derivados de sulfasalazina, fármacos inmunosupresores, ciclosporina A, mercaptopurina, azatiopurina, prednisona, metotrexato, antihistamínicos, glucocorticoides, epinefrina, teofilina, cromolina sodio, antileucotrienos, fármacos anticolinérgicos para la rinitis, antagonistas de TLR, inhibidores de la inflamación, descongestionantes anticolinérgicos, estabilizadores de mastocitos, anticuerpos monoclonales anti-IgE, vacunas, inhibidores de citocinas,

anticuerpos anti-IL-6, inhibidores del TNF, infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab y etanercept.

5 43. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el agente terapéutico adicional es un antibiótico.

44. El método de la reivindicación 43, en donde el antibiótico se selecciona del grupo que consiste en aminoglucósidos, ansamicinas, carbacefemas, carbapenemas, 10 cefalosporinas, glucopéptidos, lincosamidas, lipopéptidos, macrólidos, monobactamas, nitrofuranos, oxazolidononas, penicilinas, antibióticos polipéptidos, quinolonas, fluoroquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, compuestos antimicobacterianos y combinaciones de los mismos.

15 45. El método de la reivindicación 41, en donde el agente terapéutico adicional es un agente terapéutico contra el cáncer.

46. El método de la reivindicación 45, en donde el agente terapéutico contra el cáncer comprende un agente 20 quimioterapéutico.

47. El método de la reivindicación 46, en donde el agente quimioterapéutico se selecciona del grupo que consiste en tiotepa, ciclofosfamida, busulfán, improsulfan, piposulfan, 25 benzodopa, carboquona, meturedopa, uredopa, altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida, trimetilolomelamina, bulatacina, bullatacinona, camptotecina, topotecan, briostatina, calistatina, CC-1065, criptoficina 1, criptoficina 8, 30 dolastatina, duocarmicina, eleuterobina, pancratistatina, sarcodictina, espongistatina, clorambucil, clornafazina,

colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, 5 ranimustina, caliqueamicina, dinemicina, clodronato, esperamicina; neocarzinostatina cromóforo, aclacinomisin, actinomicina, autrarnicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 10 diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicina, mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicina, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, 15 ubenimex, zinostatina, zorrubicina, metotrexato, 5-fluoruracil (5-FLU), denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato, fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 20 calusterona, dromostanolona propionato, epitioestanol, mepitioestano, testolactona, aminoglutetimida, mitotano, trilostano, ácido frolínico, aceglatona, glucósido de aldofosfamida, ácido aminolevulínico, eniluracilo, amsacrina, bestrabucilo, bisantreno, edatraxato, defofamina, demecolcina, 25 diaziquona, eflornitina, acetato de eliptinio, epotilona, etoglúcido, nitrato de galio, hidroxihidra, lentinan, lonidainina, maitansina, ansamitocinas, mitoguazona, mitoxantrona, mopidanmol, nitraerina, pentostatina, fenamet, pirarrubicina, losoxantrona, ácido podofilínico, 2- 30 etilhidrazida, procarbazona, complejo de polisacárido PSK,

razoxano, rizoxina, sizofurano, spirogermanio, ácido
tenuazónico, triaziquona; 2,2',2''-triclorotrietilamina,
tricoteceno, toxina T-2, verracurina A, roridina A, anguidina,
uretano, vindesina, dacarbazina, mannomustina, mitobronitol,
5 mitolactol, pipobromano, gacitosina, arabinósido,
ciclofosfamida, tiotepa, paclitaxel, doxetaxel, clorambucilo,
gemcitabina, 6-tioguanina, mercaptopurina, metotrexato,
cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, vinblastina, platino,
etopósido, ifosfamida, mitoxantrona, vincristina, vinorelbina,
10 novantrona, tenipósido, edatrexato, daunomicina, aminopterina,
xeloda, ibandronato, irinotecán, RFS 2000,
difluorometilomitina, ácido retinoico y capecitabina.

48. El método de una cualquiera de las reivindicaciones
45 a 47, en donde el agente terapéutico contra el cáncer
15 comprende un agente inmunoterapéutico contra el cáncer.

49. El método de la reivindicación 48, en donde el agente
inmunoterapéutico contra el cáncer comprende un inhibidor del
punto de control inmunitario.

50. El método de la reivindicación 49, en donde el
inhibidor del punto de control inmunitario es un anticuerpo o
fragmento de unión a antígeno del mismo que se une
específicamente a una proteína del punto de control
inmunitario.

51. El método de la reivindicación 41, en donde la
proteína del punto de control inmunitario se selecciona del
grupo que consiste en CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, A2AR, B7-H3,
B7-H4, BTLA, KIR, LAG3, TIM- 3 o VISTA.

52. El método de la reivindicación 49, en donde el
inhibidor del punto de control inmunitario se selecciona del

grupo que consiste en nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab, AMP-224, AMP-514, STI-A1110, TSR-042, RG-7446, BMS-936559, MEDI- 4736, MSB-0020718C, AUR-012 y STI-A1010.

5 53. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48 a 52, en donde el agente inmunoterapéutico contra el cáncer comprende un anticuerpo específico contra el cáncer o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

10 54. El método de la reivindicación 53, en donde el anticuerpo específico de cáncer o el fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un antígeno asociado al cáncer.

15 55. El método de la reivindicación 45, en donde el antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que consiste en adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("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, 20 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, 25 glypican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2 / neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70 -2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxilo esterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-30 fucosiltransferasaAS, 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, mamaglobina-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
5 clase I, N-crudo, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ES0-1 / 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,
10 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, Triosafofosfato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1 y XAGE-1b/GAGED2a.

15 56. El método de la reivindicación 55, en donde el antígeno asociado al cáncer es un neoantígeno.

57. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48 a 56, en donde el agente inmunoterapéutico contra el cáncer
20 comprende una vacuna contra el cáncer.

58. El método de la reivindicación 57, en donde la vacuna contra el cáncer comprende un polipéptido que comprende un epítipo de un antígeno asociado al cáncer.

25 59. El método de la reivindicación 58, en donde el antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que consiste en adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("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-
30 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,
 5 FN1, G250 / MN / CAIX, GAGE-1,2,8, GAGE-3,4,5,6,7, GAS7,
 glypican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2 /
 neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70 -2, IDO1,
 IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxilo esterasa intestinal, K-ras,
 Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también
 10 conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-
 fucosiltransferasaAS, 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, mamaglobina-A, MART2, MATN, MC1R,
 MCSP, mdm-2, ME1, Melan-A/MART-1, Meloe, Midkina, MMP-2, MMP-
 15 7, MUC1, MUC5AC, mucina, MUM-1, MUM-2, MUM-3, miosina, miosina
 clase I, N-crudo, 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-
 20 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, TRP2-INT2, tirosinasa,
 25 tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1 y XAGE-1b/GAGED2a.

60. El método de la reivindicación 58, en donde el antígeno asociado al cáncer es un neoantígeno.

61. El método de una cualquiera de las reivindicaciones
 30 58 a 60, en donde el polipéptido es una proteína de fusión.

62. El método de la reivindicación 57, en donde la vacuna contra el cáncer comprende un ácido nucleico que codifica un epítipo de un antígeno asociado al cáncer.

5 63. El método de la reivindicación 62, en donde el antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que consiste en adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("AFP"), ARTC1, B-RAF, BAGE- 1, BCLX (L), proteína de fusión BCR-ABL b3a2, beta-catenina, BING-4, CA-
10 125, 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,
15 FN1, G250 / MN / CAIX, GAGE-1,2,8, GAGE-3,4,5,6,7, GAS7, glypican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2 / neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70 -2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxilo esterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasaAS, 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, mamaglobina-A, MART2, MATN, MC1R, MCSP, mdm-2, ME1, Melan-A/MART-1, Meloe, Midkina, MMP-2, MMP-
20 7, MUC1, MUC5AC, mucina, MUM-1, MUM-2, MUM-3, miosina, miosina clase I, N-crudo, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ES0-1 / 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,
25 30

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, Triosafofato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, 5 tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1 y XAGE-1b/GAGED2a.

64. El método de la reivindicación 62, en donde el antígeno asociado al cáncer es un neoantígeno.

65. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 10 62 a 64, en donde el ácido nucleico es ADN.

66. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 62 a 64, en donde el ácido nucleico es ARN.

67. El método de la reivindicación 66, en donde el ARN es ARNm. 15

68. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 65 a 67, en donde el ácido nucleico está en un vector.

69. El método de la reivindicación 68, en donde el vector es un vector bacteriano.

70. El método de la reivindicación 69, en donde el vector bacteriano se selecciona del grupo que consiste en Mycobacterium bovis (BCG), Salmonella Typhimurium ssp., Salmonella Typhi ssp., Clostridium sp. esporas, Escherichia coli Nissle 1917, Escherichia coli K-12/LL0, Listeria monocytogenes y Shigella flexneri. 20 25

71. El método de la reivindicación 68, en donde el vector es un vector vírico.

72. El método de la reivindicación 71, en donde el vector vírico se selecciona del grupo que consiste en vaccinia, adenovirus, virus de ARN y avipox con replicación defectuosa, 30

viruela aviar con replicación defectuosa, viruela del canario con replicación defectuosa, MVA con replicación defectuosa y adenovirus con replicación defectuosa.

5 73. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48 a 72, en donde el agente inmunoterapéutico comprende una célula presentadora de antígeno (APC) sensibilizada con un antígeno específico de cáncer.

10 74. El método de la reivindicación 73, en donde la APC es una célula dendrítica, un macrófago o un linfocito B.

15 75. El método de la reivindicación 73 o la reivindicación 74, en donde el antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que consiste en adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("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
20 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, glipican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsina, HER-2/neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA- DOB, hsp70-2, ID01, IGF2B3, IL13Ralfa2, Carboxilo esterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-flucosiltransferasa AS, Lengsina, M-CSF, MAGE-A1, MAGE-A10, MAGE-A12, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A9, MAGE-
25 C1, MAGE-C2, enzima málica, mamaglobina-A, MART2, MATN, MC1R,
30

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 clase I, N-raw, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ESO-1 / LAGE-2, OA1, OGT, OS-9, polipéptido P, p53, PAP, PAX5, PBF, 5 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, 10 TAG-2, Telomerasa, TGF-betaRII, TPBG, TRAG-3, Triosafosfato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1 y XAGE-1b/GAGED2a.

76. El método de la reivindicación 73 o la reivindicación 74, en donde el antígeno asociado al cáncer es un neoantígeno. 15

77. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48 a 76, en donde el agente inmunoterapéutico comprende un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico de cáncer.

78. El método de la reivindicación 77, en donde el CAR se administra en la superficie de un linfocito T. 20

79. El método de la reivindicación 77 o 78, en donde el CAR se une específicamente a un antígeno asociado al cáncer.

80. El método de la reivindicación 79, en donde el antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que 25 consiste en adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("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, 30 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, glypican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2 / neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70 -2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxilo esterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasaAS, 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, mamaglobina-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 clase I, N-crudo, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ES0-1 / 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, Triosafofato isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa, tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1 y XAGE-1b/GAGED2a.

81. El método de la reivindicación 78, en donde el antígeno asociado al cáncer es un neoantígeno.

82. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48 a 81, en donde el agente inmunoterapéutico comprende un linfocito T específico de cáncer.

83. El método de la reivindicación 82, en donde el linfocito T es un linfocito T CD4⁺.

84. El método de la reivindicación 83, en donde el linfocito T CD4⁺ es un linfocito T T_H1, un linfocito T T_H2 o un linfocito T T_H17.

85. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 82 a 84, en donde el linfocito T expresa un receptor de linfocitos T específico para un antígeno asociado al cáncer.

86. El método de la reivindicación 85, en donde el antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que consiste en adipofilina, AIM-2, ALDH1A1, alfa-actinina-4, alfa-fetoproteína ("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, glypican-3, GnTV, gp100/Pmel17, GPNMB, HAUS3, Hepsin, HER-2 / neu, HERV-K-MEL, HLA-A11, HLA-A2, HLA-DOB, hsp70 -2, IDO1, IGF2B3, IL13Ralpha2, carboxilo esterasa intestinal, K-ras, Kalikreína 4, KIF20A, KK-LC-1, KKLC1, KM-HN-1, KMHN1 también conocido como CCDC110, LAGE-1, proteína de fusión LDLR-fucosiltransferasaAS, 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, mamaglobina-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
clase I, N-crudo, NA88-A, neo-PAP, NFYC, NY-BR-1, NY-ES0-1 /
LAGE-2, OA1, OGT, OS-9, polipéptido P, p53, PAP, PAX5, PBF,
5 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
10 isomerasa, TRP-1/gp75, TRP-2, TRP2-INT2, tirosinasa,
tirosinasa ("TYR"), VEGF, WT1 y XAGE-1b/GAGED2a.

87. El método de una cualquiera de las reivindicaciones
48 a 86, en donde el agente inmunoterapéutico comprende una
15 proteína inmunoactivadora.

88. El método de la reivindicación 87, en donde la
proteína inmunoactivadora es una citocina o quimiocina.

89. El método de la reivindicación 88, en donde la
proteína inmunoactivadora se selecciona del grupo que consiste
20 en quimioatrayente de linfocito B ("BLC"), quimiocina de motivo
C-C 11 ("Eotaxina-1"), proteína quimiotáctica de eosinófilos 2
("Eotaxina-2"), factor estimulante de colonias de granulocitos
("G-CSF"), factor estimulante de colonias de granulocitos
macrófagos ("GM-CSF"), 1-309, molécula de adhesión
25 intercelular 1 ("ICAM-1"), Interferón alfa ("IFN-alfa"),
Interferón beta ("IFN-beta") Interferón gamma ("IFN-gamma"),
Interleucina-1 alfa ("IL-1 alfa"), Interleucina-1 beta ("IL-1
beta"), antagonista de receptor de Interleucina 1 ("IL-1 ra"),
Interleucina-2 ("IL-2"), Interleucina-4 ("IL-4"),
30 Interleucina-5 ("IL-5"), Interleucina-6 ("IL-6"), receptor

soluble de Interleucina-6 ("IL-6 sR"), Interleucina-7 ("IL-7"), 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"),
5 Interleucina-15 ("IL-15"), Interleucina-16 ("IL-16"), Interleucina-17A-F ("IL-17A-F"), Interleucina-18 ("IL-18"), Interleucina-21 ("IL-21"), Interleucina-22 ("IL-22"), Interleucina-23 ("IL-23"), Interleucina-33 ("IL-33"),
10 Quimiocina (motivo C-C) Ligando 2 ("MCP-1"), factor estimulante de colonias de macrófagos ("M-CSF"), Monocina inducida por gamma interferón ("MIG"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 2 ("MIP-1 alfa"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 4 ("MIP-1 beta"), Proteína inflamatoria de macrófagos- 1 -delta ("MIP-1 delta"), subunidad B de factor de crecimiento derivado de
15 plaquetas ("PDGF-BB"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 5, linfocitos T normales regulados en la activación, expresados y secretados ("RANTES"), inhibidor de metalopeptidasa TIMP 1 ("TIMP-1"), inhibidor de metalopeptidasa TIMP 2 ("TIMP-2"), factor de necrosis tumoral, linfoxina alfa ("TNF alfa"),
20 factor de necrosis tumoral, linfoxina-beta ("TNF beta"), receptor de TNF soluble de tipo 1 ("sTNFRI"), sTNFRIIAR, factor neurotrófico derivado del cerebro ("BDNF"), factor básico de crecimiento de fibroblastos ("bFGF"), proteína morfogenética ósea 4 ("BMP-4"), proteína morfogenética ósea 5 ("BMP-5"),
25 proteína morfogenética ósea 7 ("BMP-7"), factor de crecimiento de nervios ("b-NGF"), factor de crecimiento epidérmico ("EGF"), receptor de factor de crecimiento epidérmico ("EGFR"), factor de crecimiento endotelial vascular derivado de la glándula endocrina ("EG-VEGF"), factor de crecimiento de fibroblastos 4
30 ("FGF-4"), factor de crecimiento de queratinocitos ("FGF-7"),

factor de diferenciación del crecimiento 15 ("GDF-15"), factor neurotrófico derivado de las células de la Glía ("GDNF"), Hormona del crecimiento, factor de crecimiento de tipo EGF de unión a heparina ("HB-EGF"), factor de crecimiento de hepatocitos ("HGF"), proteína 1 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-1"), proteína 2 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-2"), proteína 3 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-3"), proteína 4 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-4"), proteína 6 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina ("IGFBP-6"), factor de crecimiento 1 de tipo insulina ("IGF-1"), Insulina, factor estimulante de colonias de macrófagos ("M-CSF R"), receptor de factor de crecimiento de nervios ("NGF R"), Neurotrofina-3 ("NT-3"), Neurotrofina-4 ("NT-4"), factor inhibidor de la osteoclastogénesis ("Osteoprotegerina"), receptores de factor de crecimiento derivado de plaquetas ("PDGF-AA"), biosíntesis de fosfatidilinositol-glucano ("PIGF"), Skp, Culina, complejo que contiene la F-box ("SCF"), receptor del factor de células madre ("SCF R"), factor de crecimiento transformante alfa ("TGFalpha"), factor de crecimiento transformante beta-1 ("TGF beta 1"), factor de crecimiento transformante beta-3 ("TGF beta 3"), factor de crecimiento endotelial vascular ("VEGF"), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular 2 ("VEGFR2"), receptor de factor de crecimiento endotelial vascular 3 ("VEGFR3"), VEGF-D 6Ckina, receptor de cinasa de proteína tirosina UFO ("Axl"), Betacelulina ("BTC"), quimiocina epitelial asociado a la mucosa ("CCL28"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 27 ("CTACK"), Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 16 ("CXCL16"), quimiocina de motivo C-X-C 5 ("ENA-78"),

Quimiocina (motivo C-C) ligando 26 ("Eotaxina-3"), proteína quimiotáctica de granulocitos 2 ("GCP-2"), GRO, Quimiocina (motivo C-C) ligando 14 ("HCC-1"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 16 ("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"), quimiocina de motivo C-X-C 10 ("IP-10"), receptor de quimiocina CXCR3 ("I-TAC"), factor inhibidor de leucemia ("LIF"), Ligera, Quimiocina (motivo C) ligando ("Linfotactina"), Proteína quimioatrayente de monocitos 2 ("MCP-2"), Proteína quimioatrayente de monocitos 3 ("MCP-3"), Proteína quimioatrayente de monocitos 4 ("MCP-4"), quimiocina derivada de macrófagos ("MDC"), factor inhibidor de migración de macrófagos ("MIF"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 20 ("MIP-3 alfa"), quimiocina de motivo C-C 19 ("MIP-3 beta"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 23 ("MPIF-1"), Cadena alfa de proteína estimulante de macrófagos ("MSPalfa"), proteína de ensamblaje de nucleosoma de tipo 1 4 ("NAP-2"), fosfoproteína secretada 1 ("Osteopontina"), citosina pulmonar y regulada por la activación ("PARC"), factor de plaquetas 4 ("PF4"), factor derivado de células del estroma 1 ("SDF-1 alfa"), Quimiocina (motivo C-C) ligando 17 ("TARC"), quimiocina expresada en el timo ("TECK"), linfopoyetina estromal tímica ("TSLP 4- IBB"), antígeno CD 166 ("ALCAM"), Grupo de diferenciación 80 ("B7-1"), miembro de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral 17 ("BCMA"), grupo de diferenciación 14 ("CD14"), grupo de diferenciación 30 ("CD30"), grupo de diferenciación 40 ("Ligando CD40"), molécula de adhesión celular relacionado con el antígeno carcinoembriónico 1 (glucoproteína biliar) ("CEACAM-1"),

receptor de muerte 6 ("DR6"), Desoxitimidina cinasa ("Dtk"), glucoproteína de membrana de tipo 1 ("Endoglina"), Receptor cinasa de proteína tirosina erbB-3 ("ErbB3"), molécula de adhesión leucocito-endotelial 1 ("E-Selectina"), antígeno de apoptosis 1 ("Fas"), tirosina cinasa de tipo Fms 3 ("Flt-3L"), miembro de superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral 1 ("GITR"), miembro de superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral 14 ("HVEM"), molécula de adhesión intercelular 3 ("ICAM-3"), IL-1 R4, IL-1 RI, IL-10 Rbeta, IL-17R, IL-2Rgamma, IL-21R, proteína de membrana de lisosoma 2 ("LIMPII"), lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos ("Lipocalina-2"), CD62L ("L-Selectina"), endotelio linfático ("LYVE-1"), secuencia A asociada al polipéptido de MHC de clase I ("MICA"), secuencia B asociada al polipéptido de MHC de clase I ("MICB"), NRGL-beta1, receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas de tipo Beta ("PDGF Rbeta"), molécula de adhesión celular endotelial de plaquetas ("PECAM-1"), RAGE, receptor celular del virus de la Hepatitis A 1 ("TIM-1"), Miembro de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral IOC ("TRAIL R3"), dominio de unión transglutaminasa de la proteína Trappina ("Trappin-2"), receptor de urocina ("uPAR"), proteína de adhesión celular vascular 1 ("VCAM-1"), XEDARActivina A, proteína asociada con Agouti ("AgRP"), Ribonucleasa 5 ("Angiogenina"), Angiopoyetina 1, Angiostatina, Cateprina S, CD40, proteína de la familia Cryptic IB ("Cripto-1"), DAN, proteína relacionada con Dickkopf 1 ("DKK-1"), E-Cadherina, molécula de adhesión celular epitelial ("EpCAM"), Ligando Fas (FasL o CD95L), Fcγ RIIB/C, FcγRIIb, Galectina-7, molécula de adhesión intercelular 2 ("ICAM-2"), IL-13 R1, IL-13R2, IL-17B, IL-2 Ra, IL-2 Rb, IL-23, LAP, molécula de

adhesión celular neuronal ("NrCAM"), inhibidor de activador del plasminógeno 1 ("PAI-1"), receptores del factor de crecimiento derivados de plaquetas ("PDGF-AB"), Resistina, factor derivado de células estromales 1 ("SDF-1 beta"), sgpl30, proteína relacionada con frizzled secretada 2 ("ShhN"), lectinas de tipo inmunoglobulina de unión a ácido siálico ("Siglec-5"), ST2, factor de crecimiento transformante beta 2 ("TGF beta 2"), Tie-2, Trombopoyetina ("TPO"), miembros de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral 10D ("TRAIL R4"), receptor de cascada expresado en células mieloides 1 ("TREM-1"), factor C de crecimiento endotelial vascular C ("VEGF-C"), VEGFR1Adiponectina, Adipsina ("AND"), Alfa-fetoproteína ("AFP"), Angiopoyetina tipo 4 ("ANGPTL4"), Beta-2-microglobulina ("B2M"), molécula de adhesión de células basales ("BCAM"), antígeno de carbohidrato 125 ("CA125"), antígeno de cáncer 15-3 ("CA15-3"), antígeno carcinoembriónico ("CEA"), proteína del receptor de AMPc ("CRP"), Receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2 ("ErbB2"), Folistatina, hormona folículoestimulante ("FSH"), Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 1 ("GRO alfa"), gonadotropina coriónica humana ("beta HCG"), receptor de factor de crecimiento de tipo insulina 1 ("IGF-1 sR"), IL-1 sRII, IL-3, IL-18 Rb, IL-21, Leptina, Metaloproteinasa de matriz 1 ("MMP-1"), Metaloproteinasa de matriz 2 ("MMP-2"), Metaloproteinasa de matriz 3 ("MMP-3"), Metaloproteinasa de matriz 8 ("MMP-8"), Metaloproteinasa de matriz 9 ("MMP-9"), Metaloproteinasa de matriz 10 ("MMP-10"), Metaloproteinasa de matriz 13 ("MMP-13"), molécula de adhesión de células neuronales ("NCAM-1"), Entactina ("Nidogen-1"), enolase específica de neuronas ("NSE"), Oncostatina M ("OSM"), Procalcitonina, Prolactina,

antígeno específico de próstata ("PSA"), lectina de tipo Ig de
unión a ácido siálico 9 ("Siglec-9"), endopeptidasa ADAM 17
("TACE"), Tiroglobulina, inhibidor de metaloproteinasa 4
("TIMP-4"), TSH2B4, proteína que contiene el dominio
5 desintegrina y metaloproteinasa 9 ("ADAM-9"), Angiopoyetina 2,
miembro de la superfamilia de ligandos de factor de necrosis
tumoral 13/miembro B de la familia de fosfoproteína 32 nuclear
rica en leucina ácida ("APRIL"), proteína morfogenética ósea 2
("BMP-2"), Proteína morfogenética ósea 9 ("BMP-9"), componente
10 del complemento 5a ("C5a"), Catepsina L, CD200, CD97,
Quemerina, Miembro 6B de superfamilia de receptor de factor de
necrosis tumoral ("DcR3"), proteína de unión a ácidos grasos 2
("FABP2"), proteína de activación de fibroblastos, alfa
("FAP"), factor de crecimiento de fibroblastos 19 ("FGF-19"),
15 Galectina-3, receptor de factor de crecimiento de hepatocitos
("HGF R"), IFN-gammalfa/beta R2, factor de crecimiento de tipo
insulina 2 ("IGF-2"), receptor de factor de crecimiento de tipo
insulina 2 ("IGF-2 R"), receptor de interleucina 1 6 ("IL-
1R6"), Interleucina 24 ("IL-24"), Interleucina 33 ("IL-33"),
20 Kalikreína 14, Asparaginil endopeptidasa ("Legumaina"),
receptor de lipoproteína de baja densidad oxidado 1 ("LOX-1"),
lectina de unión a manosa ("MBL"), Neprilisina ("NEP"),
homólogo de Notch 1, asociada a la translocación (Drosophila)
("Notch-1"), Nefroblastoma sobreexpresado ("NOV"),
25 Osteoactivina, proteína de muerte celular programada 1 ("PD-
1"), N-acetilmuramoil-L-alanina amidasa ("PGRP-5"), Serpina
A4, proteína relacionada con frizzled secretada 3 ("sFRP-3"),
Trombomodulina, receptor de tipo Toll 2 ("TLR2"), miembro de
la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral
30 10A ("TRAIL R1"), Transferrina ("TRF"), WIF-LACE-2, Albúmina,

AMICA, Angiopoyetina 4, factor activador de linfocitos B ("BAFF"), antígeno de carbohidratos 19-9 ("CA19-9"), CD 163, Clusterina, CRT AM, Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 14 ("CXCL14"), Cistatina C, Decorina ("DCN"), proteína
5 relacionada con Dickkopf 3 ("Dkk-3"), proteína de tipo Delta 1 ("DLL1"), Fetuina A, factor de crecimiento de unión a heparina 1 ("aFGF"), receptor de folato alfa ("FOLR1"), Furina, proteína de clasificación asociada a GPCR 1 ("GASP-1"), proteína de clasificación asociada a GPCR 2 ("GASP-2"), receptor de factor
10 estimulante de colonias de granulocitos ("GCSF R"), hepsina de serina proteasa ("HAI-2"), receptor de interleucina 17B ("IL-17B R"), Interleucina 27 ("IL-27"), gen de activación de linfocitos 3 ("LAG-3"), Apolipoproteína A-V ("LDL R"), Pepsinógeno I, proteína de unión a Retinol 4 ("RBP4"), SOST,
15 proteoglicano de Heparán sulfato ("Sindecano-1"), miembro de la superfamilia de receptor de factor de necrosis tumoral 13B ("TACI"), inhibidor de la vía de factor tisular ("TFPI"), TSP-1, miembro de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral 10b ("TRAIL R2"), TRANCE, Troponina I,
20 activador de plasminógeno de urocinasa ("uPA"), Cadherina 5, tipo 2 o VE-cadherina (endotelial vascular) también conocida como CD144 ("VE-Cadherina"), proteína de vía de señalización inducible por WNT1 1 ("WISP-1"), y activador del receptor del factor nuclear κ B ("RANK").

25 90. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 48 a 89, en donde el agente inmunoterapéutico comprende un adyuvante.

30 91. El método de la reivindicación 90, en donde el adyuvante se selecciona del grupo que consiste en una proteína inmunomoduladora, Adyuvante 65, α -GalCer, fosfato de aluminio,

hidróxido de aluminio, fosfato de calcio, péptido β -glucano, ADN CpG, GPI-0100, lípido A, lipopolisacárido, Lipovant, Montanida, N-acetil-muramil-L-alanil-D-isoglutamina, Pam3CSK4, quil A y trehalosa dimicolato.

5

92. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 45 a 91, en donde el agente terapéutico contra el cáncer comprende un inhibidor de la angiogénesis.

93. El método de la reivindicación 92, en donde el inhibidor de la angiogénesis se selecciona del grupo que consiste en Bevacizumab (Avastin®), Ziv-aflibercept (Zaltrap®), Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®), Pazopanib (Votrient®), Regorafenib (Stivarga®) y Cabozantinib (Cometriq™).

15

94. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 93, en donde el método comprende además administrar al sujeto una segunda bacteria terapéutica.

20

95. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 94, en donde el método comprende además administrar un prebiótico al sujeto.

25

96. El método de la reivindicación 95, en donde el prebiótico es un fructooligosacárido, un galactooligosacárido, un trans-galactooligosacárido, un xilooligosacárido, un quitoooligosacárido, un oligosacárido de soja, un gentioooligosacárido, un isomaltooligosacárido, a manooligosacárido, un maltooligosacárido, un mananoligosacárido, lactulosa, lactosacarosa, palatinosa, glucosil sacarosa, goma guar, goma arábica, tagalosa, amilosa, amilopectina, pectina, xilano o una ciclodextrina.

30

97. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 96, en donde el sujeto es un ser humano.

98. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 96, en donde el sujeto es un mamífero no humano.

99. El método de la reivindicación 98, en donde el mamífero se selecciona del grupo que consiste en un perro, un gato, una vaca, un caballo, un cerdo, un burro, una cabra, un camello, un ratón, una rata, una cobaya, una oveja, una llama, un mono, un gorila o un chimpancé.

100. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 99, en donde se administra una segunda bacteria como parte de un consorcio ecológico.

101. Una composición bacteriana que comprende una bacteria de *Veillonella* y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

102. La composición bacteriana de la reivindicación 101, en donde la bacteria es una cepa que comprende al menos el 99 % de identidad de secuencia genómica, 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

103. La composición bacteriana de la reivindicación 101, en donde la bacteria es una cepa que comprende al menos el 99.9 % de identidad de secuencia genómica, 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

104. La composición bacteriana de la reivindicación 101, en donde la bacteria es una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

105. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 104, en donde la composición bacteriana se formula para la administración oral, rectal, intravenosa, intratumoral o subcutánea.

5

106. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 104, en donde al menos el 50 % de las bacterias en la composición bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

10

107. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 104, en donde al menos el 90 % de las bacterias en la composición bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

15

108. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 107, en donde sustancialmente todas las bacterias en la composición bacteriana son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

20

109. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 108, en donde la composición bacteriana comprende al menos 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC) de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

25

110. La composición bacteriana de la reivindicación 109, en donde la composición bacteriana comprende al menos 1×10^7 UFC de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

30

111. La composición bacteriana de la reivindicación 109, en donde la composición bacteriana comprende al menos 1×10^8 UFC de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

112. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 111, en donde la composición bacteriana comprende bacterias vivas.

5 113. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 111, en donde la composición bacteriana comprende bacterias atenuadas.

114. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 111, en donde la composición bacteriana
10 comprende bacterias muertas.

115. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 114, en donde la administración de la composición bacteriana trata el trastorno inmunitario.

15 116. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 115, en donde la administración de la composición bacteriana induce una respuesta inmunitaria.

117. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 115, en donde la bacteria se formula
20 con un recubrimiento entérico o microencapsulación.

118. La composición bacteriana de una cualquiera de las reivindicaciones 101 a 117, en donde la composición bacteriana comprende una bacteria irradiada.

25 119. La composición bacteriana de la reivindicación 118, en donde la composición bacteriana comprende una bacteria irradiada con rayos gamma.

120. Una composición bacteriana que comprende vesículas extracelulares (EV) de *Veillonella* aisladas.

30 121. Una composición bacteriana que comprende vesículas extracelulares (EV) de *Veillonella* y bacterias de *Veillonella*.

122. La composición bacteriana de la reivindicación 121, en donde al menos aproximadamente, o 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%, 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% del total de las EV de *Veillonella* y de las partículas de bacterias de *Veillonella* en la composición farmacéutica son EV de *Veillonella*.

123. La composición bacteriana de la reivindicación 121, en donde al menos aproximadamente, o 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%, 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% del total de las EV de *Veillonella* y de las partículas de bacterias en la composición farmacéutica son bacterias de *Veillonella*.

124. La composición bacteriana de la reivindicación 121, en donde al menos aproximadamente, o 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%, 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% del total de las EV de *Veillonella* y de proteínas de la bacteria inmunomoduladora de *Veillonella* en la composición farmacéutica, es la proteína de EV de *Veillonella*.

125. La composición bacteriana de la reivindicación 121, en donde al menos aproximadamente, o 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%, 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% del total de las EV de *Veillonella* y de la proteína de la bacteria de *Veillonella* en la composición farmacéutica es una proteína de la bacteria de *Veillonella*.

126. La composición bacteriana de la reivindicación 121, en donde al menos aproximadamente, o 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%, 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 la EV de *Veillonella* y los lípidos bacterianos en la composición farmacéutica son lípidos de EV de *Veillonella*.

5 127. La composición bacteriana de la reivindicación 121, en donde al menos aproximadamente, o 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% del total de 15 las EV de *Veillonella* y de los lípidos de bacterias de *Veillonella* en la composición farmacéutica, son lípidos de bacterias de *Veillonella*.

128. Una composición bacteriana que comprende la bacteria *Veillonella* aislada de las EV.

20 129. Un biorreactor que comprende la bacteria de *Veillonella*.

130. El biorreactor de la reivindicación 129, en donde las bacterias son una cepa que comprende al menos un 90 % de 25 identidad de secuencia genómica, 16S y/o CRISPR con la secuencia de nucleótidos de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

131. El biorreactor de la reivindicación 129, en donde las bacterias son una cepa que comprende al menos un 99 % de 30 identidad de secuencia genómica, 16S y/o CRISPR con la

secuencia de nucleótidos de una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

132. El biorreactor de la reivindicación 129, en donde las bacterias son una cepa bacteriana enumerada en la Tabla 1.

133. Un método para cultivar bacterias en un biorreactor que comprende

proporcionar un biorreactor de una cualquiera de las reivindicaciones 129 a 132; y

fermentar las bacterias durante un periodo de tiempo.

RESUMEN

En el presente documento se proporcionan métodos y composiciones relacionado con bacterias de *Veillonella*, útiles como agentes terapéuticos.

5

10

15

20

25

30