

**PREPARADOS DE PREVOTELLA Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD
PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC) Y OTRAS AFECCIONES
PULMONARES**

5 **DECLARACIÓN SOBRE LA INVESTIGACIÓN PATROCINADA POR EL
GOBIERNO FEDERAL**

Esta invención fue realizada con el apoyo del gobierno bajo el AR060077 otorgado por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos derechos sobre la invención.

10 **REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

La presente solicitud reclama la prioridad de la solicitud provisional estadounidense No. 62/862,186, presentada el 17 de junio de 2019, incorporada por referencia al presente documento en su totalidad.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

1. *Campo técnico*

Este documento se refiere a preparaciones de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) y al uso de preparaciones de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y otras afecciones pulmonares. Este documento
20 también se refiere a (a) preparaciones de *P. melaninogenica* y (b) vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) y el uso de dichas preparaciones y/o dichas vesículas para tratar una afección pulmonar como la EPOC.

2. *Información de antecedentes*

25 En el tubo digestivo de los animales vive una gran reserva de microorganismos que suele denominarse flora intestinal o microflora. Las bacterias constituyen la mayor parte de la flora del colon y aproximadamente del 60% de la masa seca de las heces. De hecho, en el intestino pueden vivir entre 300 y 1000 especies diferentes.

30 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

Este documento proporciona métodos y materiales relacionados con el tratamiento de EPOC utilizando una composición que contiene *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*). Este documento también proporciona composiciones que contienen *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*), así como métodos y materiales para hacer

tales composiciones. Por ejemplo, la presente invención proporciona composiciones que contienen *Prevotella viva* y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*) en forma de un medicamento oral o suplemento dietético (por ejemplo, una píldora, comprimido, cápsula). En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella viva* y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*) proporcionada en la presente invención puede utilizarse como un medicamento oral para EPOC o como suplemento dietético para tratar EPOC. En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella viva* y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*) proporcionada en la presente invención puede utilizarse como medicamento para EPOC del sistema respiratorio (por ejemplo, nasal) para tratar EPOC.

Las composiciones que contienen *Prevotella viva* y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*) proporcionadas en la presente invención y los métodos para utilizar dichas composiciones, tal y como se describen en la presente invención, pueden permitir a los profesionales de la medicina tratar eficazmente a los sujetos (por ejemplo, pacientes mamíferos (por ejemplo, humanos)) que padecen EPOC. En algunos casos, los métodos y materiales proporcionados en la presente invención pueden permitir a los seres humanos complementar sus dietas con organismos bacterianos que tienen la capacidad de reducir la gravedad o el desarrollo de EPOC.

En general, un aspecto de la presente invención presenta un método para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un mamífero. El método comprende (o consiste esencialmente o consiste en) administrar al mamífero una composición que comprende *Prevotella viva* o inactivada. La composición puede comprender *Prevotella viva*. La composición puede comprender *Prevotella* inactivada y *Prevotella* no viva. El mamífero puede ser un humano. El mamífero puede ser un roedor. La administración puede comprender la administración oral. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula configurada para administrar la *Prevotella* a los intestinos del mamífero. La administración puede comprender la administración al sistema respiratorio. La composición puede administrarse mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador. La gravedad de un síntoma de EPOC puede reducirse tras la administración. La gravedad del síntoma de EPOC puede reducirse en más de aproximadamente un 25 por ciento tras la administración. La gravedad del síntoma de EPOC puede reducirse en más de aproximadamente un 50 por ciento tras la administración. La gravedad de los síntomas de EPOC puede reducirse en más de aproximadamente un 75 por ciento tras la administración. La distensibilidad pulmonar del mamífero puede disminuir tras la etapa de administración. La distensibilidad pulmonar

después de la administración disminuye en al menos en aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos en aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos en aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración. El método puede comprender además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración. Al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos después de la administración puede mejorar en comparación con antes de la administración. El uno o más parámetros de la función pulmonar puede(n) comprender conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia, o una combinación de los mismos. El método puede comprender la identificación del mamífero como un enfermo de EPOC antes de la etapa de administración. El método puede comprender la identificación de que el mamífero tiene enfisema antes de la etapa de administración. Las células representativas de la *Prevotella histicola* pueden ser las que están depositadas como número de acceso NRRL B-50329. La composición puede comprender aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} UFC de *Prevotella*. La composición puede comprender entre 1×10^5 y 1×10^{12} UFC de *Prevotella*. La composición puede comprender entre 1×10^8 y 1×10^{10} UFC de *Prevotella*. La composición puede administrarse una vez al día. La composición puede administrarse dos veces al día. La composición puede administrarse tres veces al día. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 4 semanas. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 8 semanas. La *Prevotella* puede comprender (o consistir esencialmente en) *Prevotella histicola*.

En otro aspecto, la presente invención presenta un modelo de mamífero no humano de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Las células somáticas del modelo de mamífero no humano comprenden ácido nucleico que codifica uno o más serotipos HLA humanos, y en el que las células somáticas del modelo de mamífero no humano carecen de expresión de moléculas MHC de clase II endógenas y polipéptidos IL-17 endógenos, y en el que, cuando se expone al humo del cigarro durante aproximadamente 2 a aproximadamente 6 semanas, el modelo tiene una disminución de la función pulmonar en comparación con un modelo comparable no expuesto al humo del cigarro. El serotipo HLA humano puede ser DQ8. El modelo puede ser un mamífero con un gen desactivado (mamífero knock-out) con IL-17^{-/-}. El mamífero puede ser un roedor. El mamífero puede ser un ratón. El mamífero

puede tener un nivel de nicotina en sangre de aproximadamente 45 a aproximadamente 185 ng/mL. El mamífero puede tener un nivel de nicotina en sangre de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 150 ng/mL. El mamífero puede tener un mayor nivel de expresión de CXCR3, CXCL10, o ambos, en comparación con un mamífero comparable que no sea un modelo animal no humano de EPOC. El mamífero puede tener un nivel de expresión reducido en uno o más genes asociados a la fibrosis, en comparación con un mamífero comparable que no sea un modelo animal no humano de EPOC. Al menos uno de los genes asociados a la fibrosis puede seleccionarse del grupo que consiste en colágeno $\alpha 1$, fibronectina y factor de crecimiento transformante beta. La disminución de la función pulmonar puede medirse utilizando uno o más parámetros de la función pulmonar. El uno o más parámetros de la función pulmonar puede(n) comprender conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

En otro aspecto, la presente invención presenta un método para producir un modelo de mamífero no humano para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El método comprende (a) proporcionar un mamífero no humano, donde las células somáticas del mamífero no humano comprenden ácido nucleico que codifica uno o más serotipos HLA humanos, y en el que la célula somática del modelo de mamífero no humano carece de expresión de moléculas MHC de clase II endógenas y de polipéptido IL-17 endógeno; y (b) exponer el mamífero al humo del cigarro durante aproximadamente 3 a aproximadamente 6 semanas, produciendo así un modelo animal no humano para EPOC. El serotipo HLA humano puede ser DQ8. El mamífero puede ser IL-17^{-/-}. El mamífero puede ser un roedor. El mamífero puede ser un ratón. La exposición puede comprender la exposición del mamífero a aproximadamente 2 cigarros aproximadamente 10 minutos durante aproximadamente 3 horas al día aproximadamente 5 días a la semana. La exposición puede comprender la suficiente exposición al humo de los cigarros para dar lugar a un nivel de nicotina en sangre de entre aproximadamente 45 y aproximadamente 185 ng/mL. La exposición puede comprender una exposición suficiente al humo del cigarro para dar lugar a un nivel de nicotina en sangre de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 150 ng/mL. Tras la exposición, el mamífero puede tener un mayor nivel de expresión de CXCR3, CXCL10, o ambos, en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro. Tras la exposición, el mamífero puede tener un nivel de expresión reducido en uno o más genes asociados a la fibrosis, en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro. Al menos uno de los genes asociados a la fibrosis puede seleccionarse del grupo

formado por colágeno $\alpha 1$, fibronectina y factor de crecimiento transformante beta. Tras la exposición, el mamífero puede presentar una disminución de la función pulmonar en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar del humo del cigarro. La disminución de la función pulmonar puede medirse utilizando uno o más parámetros de la función pulmonar. Los uno o más parámetros de la función pulmonar pueden comprender conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

En otro aspecto, la presente invención presenta un modelo de mamífero no humano de EPOC producido por un método que comprende (a) proporcionar un mamífero no humano, donde las células somáticas del mamífero no humano comprenden ácido nucleico que codifica uno o más serotipos HLA humanos, y en el que la célula somática del modelo de mamífero no humano carece de expresión de moléculas MHC clase II endógenas y de polipéptido IL-17 endógeno; y (b) exponer al mamífero al humo del cigarro durante aproximadamente 3 a aproximadamente 6 semanas, produciendo así un modelo animal no humano para la EPOC. El serotipo HLA humano puede ser DQ8. El mamífero puede ser IL-17^{-/-}. El mamífero puede ser un roedor. El mamífero puede ser un ratón. La exposición puede comprender la exposición del mamífero a aproximadamente 2 cigarros aproximadamente 10 minutos durante aproximadamente 3 horas al día aproximadamente 5 días a la semana. La exposición puede comprender la suficiente exposición al humo de los cigarros para dar lugar a un nivel de nicotina en sangre de entre aproximadamente 45 y aproximadamente 185 ng/mL. La exposición puede comprender una exposición suficiente al humo del cigarro para dar lugar a un nivel de nicotina en sangre de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 150 ng/mL. Tras la exposición, el mamífero puede tener un mayor nivel de expresión de CXCR3, CXCL10, o ambos, en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro. Tras la exposición, el mamífero puede tener un nivel de expresión reducido en uno o más genes asociados a la fibrosis, en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro. Al menos uno de los genes asociados a la fibrosis puede seleccionarse del grupo formado por colágeno $\alpha 1$, fibronectina y factor de crecimiento transformante beta. Tras la exposición, el mamífero puede presentar una disminución de la función pulmonar en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar del humo del cigarro. La disminución de la función pulmonar puede medirse utilizando uno o más parámetros de la función pulmonar.

Los uno o más parámetros de la función pulmonar pueden comprender la conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una

combinación de los mismos.

En otro aspecto, la presente invención presenta un método para tratar una afección pulmonar en un mamífero. El método comprende (o consiste esencialmente o consiste en) administrar al mamífero una composición que comprende *Prevotella* viva o inactivada. La composición puede comprender *Prevotella* viva. La composición puede comprender *Prevotella* inactivada y *Prevotella* no viva. El mamífero puede ser un humano. El mamífero puede ser un roedor. La administración puede comprender la administración oral. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula configurada para administrar la *Prevotella* a los intestinos del mamífero. La administración puede comprender la administración al sistema respiratorio. La composición puede administrarse mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador. La gravedad de un síntoma de la afección pulmonar puede reducirse tras la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 25 por ciento tras la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 50 por ciento después de la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 75 por ciento tras la administración. La distensibilidad pulmonar del mamífero puede disminuir tras la etapa de administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir al menos en aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración. El método puede comprender además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración. Al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos después de la administración puede mejorar en comparación con antes de la administración. El uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia, o una combinación de los mismos. El método puede comprender la identificación del mamífero que tiene la condición pulmonar antes de la etapa de administración. El método puede comprender identificar que el mamífero tiene neumonía antes de la etapa de administración. Las células representativas de la *Prevotella* pueden depositarse como número de acceso NRRL B-50329. La composición puede comprender aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} UFC de *Prevotella*.

La composición puede comprender entre aproximadamente 1×10^5 y aproximadamente 1×10^{12} UFC de *Prevotella*. La composición puede comprender entre aproximadamente 1×10^8 y aproximadamente 1×10^{10} UFC de *Prevotella*. La composición puede administrarse una vez al día. La composición puede administrarse dos veces al día. La composición puede administrarse tres veces al día. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 4 semanas. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 8 semanas. La *Prevotella* puede comprender *Prevotella histicola*. La afección pulmonar puede seleccionarse del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, enfermedad causada por una infección y sus combinaciones. La enfermedad causada por una infección puede seleccionarse del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección parasitaria y combinaciones de las mismas. La infección vírica puede seleccionarse del grupo que consiste en neumonía vírica, bronquitis vírica, gripe, infección por coronavirus, infección por adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus y combinaciones de las mismas. La infección bacteriana puede seleccionarse del grupo que consiste en infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydomphila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por *Mycobacterium*, infección por *Legionella*, y combinaciones de las mismas. La afección pulmonar puede comprender neumonía.

En otro aspecto, la presente invención presenta un método para tratar una afección pulmonar en un mamífero. El método comprende (o consiste esencialmente o consiste en) administrar al mamífero una composición que comprende *Prevotella melaninogenica* viva o inactivada. La composición puede comprender *Prevotella melaninogenica* viva. La composición puede comprender *Prevotella melaninogenica* inactivada y *Prevotella melaninogenica* no viva. El mamífero puede ser un humano. El mamífero puede ser un roedor. La administración puede comprender la administración oral. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula configurada para administrar la *Prevotella melaninogenica* a los intestinos del mamífero. La administración puede comprender la administración al sistema respiratorio. La composición puede administrarse mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador. La gravedad de un síntoma de la afección pulmonar puede reducirse tras la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 25 por ciento tras la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 50 por ciento después de la administración. La gravedad del

síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 75 por ciento tras la administración. La distensibilidad pulmonar del mamífero puede disminuir tras la etapa de administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir al menos en aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración. El método puede comprender además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración. Al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos después de la administración puede mejorar en comparación con antes de la administración. El uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia, o una combinación de los mismos. El método puede comprender la identificación del mamífero que tiene la condición pulmonar antes de la etapa de administración. El método puede comprender identificar que el mamífero tiene neumonía antes de la etapa de administración. El método puede comprender la identificación de que el mamífero tiene EPOC antes de la etapa de administración. La composición puede comprender entre aproximadamente 1×10^3 y aproximadamente 1×10^{14} UFC de *Prevotella melaninogenica*. La composición puede comprender entre aproximadamente 1×10^5 y aproximadamente 1×10^{12} UFC de *Prevotella melaninogenica*. La composición puede comprender entre aproximadamente 1×10^8 y aproximadamente 1×10^{10} UFC de *Prevotella melaninogenica*. La composición puede administrarse una vez al día. La composición puede administrarse dos veces al día. La composición puede administrarse tres veces al día. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 4 semanas. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 6 semanas. La composición puede administrarse durante un periodo de al menos aproximadamente 8 semanas. La afección pulmonar puede seleccionarse del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, enfermedad causada por una infección y sus combinaciones. La enfermedad causada por una infección puede seleccionarse del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección parasitaria y combinaciones de las mismas. La infección vírica puede seleccionarse del grupo que consiste en neumonía vírica, bronquitis vírica, gripe, infección por coronavirus, infección por

adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus y combinaciones de las mismas. La infección bacteriana puede seleccionarse del grupo que consiste en infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydomphila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por *Mycobacterium*, infección por *Legionella*, y combinaciones de las mismas. La afección pulmonar puede comprender la neumonía.

En otro aspecto, la presente invención presenta un método para tratar una afección pulmonar en un mamífero. El método comprende (o consiste esencialmente o consiste en) administrar una composición que comprende vesículas de una especie de *Prevotella*. El mamífero puede ser un humano. El mamífero puede ser un roedor. La administración puede comprender la administración oral. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula. La composición puede ser una píldora, un comprimido o una cápsula configurada para suministrar las vesículas de la especie *Prevotella* a los intestinos del mamífero. La administración puede comprender la administración al sistema respiratorio. La composición puede administrarse mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador. La gravedad de un síntoma de la afección pulmonar puede reducirse tras la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 25 por ciento tras la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 50 por ciento después de la administración. La gravedad del síntoma de la afección pulmonar puede reducirse en más de un 75 por ciento tras la administración. La distensibilidad pulmonar del mamífero puede disminuir tras la etapa de administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir al menos en aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración. La distensibilidad pulmonar después de la administración puede disminuir en al menos en aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración. El método puede comprender además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración. Al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos después de la administración puede mejorar en comparación con antes de la administración. El uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia, o una combinación de los mismos. El método puede comprender la identificación del mamífero que tiene la condición pulmonar antes de la etapa

de administración. El método puede comprender identificar que el mamífero tiene neumonía antes de la etapa de administración. Las células representativas de la especie *Prevotella* pueden depositarse como número de acceso NRRL B-50329. La composición puede administrarse una vez al día. La composición puede administrarse dos veces al día. La composición puede administrarse tres veces al día. La composición puede administrarse durante un período de al menos aproximadamente 4 semanas. La composición puede administrarse durante un periodo de al menos aproximadamente 8 semanas. La especie *Prevotella* puede comprender *Prevotella histicola*. La especie *Prevotella* puede comprender *Prevotella melaninogenica*. La afección pulmonar puede seleccionarse del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, enfermedad causada por una infección y sus combinaciones. La enfermedad causada por una infección puede seleccionarse del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección parasitaria y combinaciones de las mismas. La infección vírica puede seleccionarse del grupo que consiste en neumonía vírica, bronquitis vírica, gripe, infección por coronavirus, infección por adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus y combinaciones de las mismas. La infección bacteriana puede seleccionarse del grupo que consiste en infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydophila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por *Mycobacterium*, infección por *Legionella*, y combinaciones de las mismas. La afección pulmonar puede comprender neumonía.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente invención tienen el mismo significado que los entendidos comúnmente por una persona con conocimientos ordinarios de la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente invención para poner en práctica la invención, a continuación, se describen métodos y materiales adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas aquí se incorporan por referencia en su totalidad. En caso de conflicto, la presente descripción, incluidas las definiciones, prevalecerá. Además, los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

Los detalles de una o más modalidades de la invención se exponen en las figuras que se acompañan y en la descripción que sigue. Otras características, objetos y ventajas de la invención se desprenden de la descripción y de las figuras, así como de las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es una gráfica de barras que representa la expresión de varias proteínas en los pulmones, medida por rtPCR en ratones DQ8 expuestos al humo del cigarro (HC o CS por sus siglas en inglés) o al aire (NS) durante 5 semanas. (N=3 ratones/grupo)

5 La Figura 2A es una gráfica que muestra la distensibilidad pulmonar (Cst) (como curva PV) tras la exposición al aire (NS) durante 4 semanas en ratones DQ8. N=7.

La Figura 2B es una gráfica que muestra la distensibilidad pulmonar (Cst) (como curva PV) tras la exposición a HC durante 4 semanas en ratones DQ8. N=7.

10 La Figura 2C es una gráfica que muestra la distensibilidad pulmonar (Cst) (como curva PV) tras la exposición a HC durante 4 semanas en ratones DQ8.IL-17^{-/-}. N=4.

La Figura 3 es una gráfica de barras que representa los datos compilados de cada grupo en las Figuras 2A-2C.

La Figura 4 muestra secuencias ejemplares de ARNr 16S de *P. histicola* (SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO: 2).

15 La Figura 5A muestra curvas PV representativas de la distensibilidad pulmonar de los ratones DQ8 expuestos al HC.

La Figura 5B muestra curvas PV representativas de la distensibilidad pulmonar de los ratones DQ8 expuestos al HC y tratados con *P. histicola*.

20 La Figura 5C muestra curvas PV representativas de la distensibilidad pulmonar de los ratones DQ8 expuestos al HC y tratados con *P. melaninogenica*.

La Figura 5D es una gráfica de la distensibilidad pulmonar de los ratones DQ8 ingenuos y de los ratones de las Figs. 5A-5C.

25 La Figura 6 es una gráfica de la distensibilidad pulmonar de ratones DQ8.IL17^{-/-} ingenuos (N), y del mismo tipo de ratones tratados con humo de cigarro (HC), tratados con humo de cigarro y *P. histicola* (HC/PH), o tratados con humo de cigarro y *P. melaninogenica* (HC/PM).

La Figura 7 es una gráfica de la distensibilidad pulmonar de los ratones DQ8 tratados con HC (HC), y del mismo tipo de ratones tratados con vesículas de membrana externa (OMV) de *P. histicola* (HC/PH/OMV) o con OMV de *P. melaninogenica* (HC/PM/OMV).

30 La Figura 8A es una gráfica de la transcripción de IL-1b en ratones DQ8 tratados con HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC *P. hist*).

La Figura 8B es una gráfica de la transcripción del TNF en ratones DQ8 tratados con HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC *P. hist*).

La Figura 8C es una gráfica de la transcripción de IL-23a en ratones DQ8 tratados con

HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 8D es una gráfica de la transcripción de T CTLA-4 en ratones DQ8 tratados con HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 8E es una gráfica de la transcripción de IL-13 en ratones DQ8 tratados con
5 HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 9A es una gráfica de la transcripción de IL-1b en ratones DQ8: ratones naïve (Naïve), ratones tratados con HC (DQ8 HC Naïve) y ratones tratados tanto con HC como con *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 9B es una gráfica de la transcripción de T CTLA-4 en ratones DQ8: ratones
10 naïve (Naïve), ratones tratados con HC (DQ8 HC Naïve) y ratones tratados tanto con HC como con *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 10A es una gráfica de la transcripción de IL-17R en ratones DQ8 tratados con HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 10B es una gráfica de la transcripción de IL-6 en ratones DQ8 tratados con
15 HC (DQ8 HC Naïve) o tratados con HC y *P. histicola* (DQ8 Naïve HC P. hist).

La Figura 11 es una gráfica de barras de la distensibilidad pulmonar en ratones expuestos a HC durante 2 semanas e inmunizados con colágeno de tipo II (CII), la mitad de los cuales fueron tratados con *Porphyromonas gingivalis*.

20 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La EPOC es la quinta causa de muerte. Se cree que el consumo de cigarros es un importante factor etiológico que conduce al desarrollo del enfisema/EPOC. Se cree que el humo del cigarro (HC) es un factor que contribuye a la patogénesis del enfisema/EPOC. La EPOC se caracteriza a veces por una inflamación de las vías respiratorias y un enfisema que
25 progresa hasta una limitación irreversible del flujo aéreo. Dejar de fumar no siempre influye en la progresión de la enfermedad, lo que sugiere la participación de factores endógenos, además del tabaquismo, en la progresión de la enfermedad. Dadas las limitaciones de las terapias actuales para detener la progresión de la EPOC, resulta útil identificar los factores que intervienen en la patogénesis para utilizarlos como objetivo del tratamiento.

El tabaquismo es uno de los principales factores ambientales que potencian la
30 autoinmunidad y las enfermedades inflamatorias. Se ha estudiado ampliamente el mecanismo por el que el HC provoca la inflamación. Se cree que el HC promueve la desregulación inmunitaria al inducir la afluencia de neutrófilos y otras células proinflamatorias que secretan IL-17. La diferenciación de las células Th17 por parte de los comensales asociados a la

mucosa contribuye a la protección frente a las infecciones. Los pulmones no son estériles, y la microbiota pulmonar puede ser un factor en la inflamación inducida por el HC en el pulmón. Este concepto está respaldado por el papel de la microbiota intestinal en la regulación de las respuestas inmunitarias adaptativas e innatas. Hay poca información sobre el papel del microbioma pulmonar en la EPOC. Los pulmones de los fumadores y los pulmones de EPOC albergan alteraciones en la composición del microbioma en comparación con los pulmones sanos (véase, por ejemplo, Yadava, K., et al. *Am J Respir Crit Care Med* 193: 975-987, 2016; Wang, Z., et al. *Thorax* 73: 331-338 (2018); Larsen, J. *Immunology* 151.4: 363-374 (2017); Scher, J., et al. *Microbiome* 4.1:60 (2016)). En algunos casos, se ha observado una relación más estrecha entre la microbiota pulmonar y la oral que la microbiota pulmonar y la nasal (véase, por ejemplo, Bassis, C. M., et al. *MBio* 6: e00037 (2015)). El microbioma de la EPOC puede tener una abundancia de *Pseudomonas* y *Haemophilus*, pero puede carecer de microbios orales e intestinales comúnmente presentes pertenecientes al género *Prevotella* (véase, por ejemplo, Wang, Z., et al. *Thorax* 73: 331-338 (2018)).

Para cualquiera de los métodos descritos en la presente invención se puede utilizar cualquier especie o combinación de especies de *Prevotella*. En algunas modalidades, se puede utilizar *P. histicola*. En algunas modalidades, puede utilizarse *P. melaninogenica*. En algunas modalidades, se puede utilizar *P. histicola* y *P. melaninogenica*. En algunos casos, una combinación de especies de *Prevotella* puede equilibrar la respuesta inmunitaria y mejorar la función pulmonar en una afección pulmonar (por ejemplo, cualquiera de las afecciones pulmonares descritas en la presente invención, por ejemplo, EPOC).

La presente invención proporciona métodos para tratar una afección pulmonar en un mamífero. Los métodos pueden incluir la administración al mamífero de una composición que incluye (a) *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*, y/o (b) vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*). Los ejemplos de afecciones pulmonares que pueden tratarse como se describe en la presente invención incluyen, sin limitación, EPOC, asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis e infecciones (por ejemplo, infecciones virales, bacterianas, parasitarias o fúngicas) que afectan al pulmón o que afectan a la función pulmonar. En algunas modalidades, dicha infección puede ser una infección vírica (por ejemplo, neumonía vírica, bronquitis vírica, gripe, infección por coronavirus, infección por adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus o una combinación de las mismas), una infección bacteriana (por ejemplo, infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydomphila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por

Mycobacterium, infección por *Legionella*, o una combinación de ellas), una infección por hongos (por ejemplo, infección por *Aspergillus*, infección por *Cryptococcus*, infección por *Pneumocystis*, o una combinación de ellas), una infección parasitaria (por ejemplo, infección por *Plasmodium*, infección por *Toxoplasma*, infección por *Entamoeba*, infección por *Ascaris*,
5 infección por *Schistosoma*, o una combinación de ellas), o una combinación de ellas. En algunas modalidades, una afección pulmonar puede ser una neumonía.

La presente invención también proporciona métodos para tratar la EPOC en un mamífero. Los métodos pueden incluir la administración al mamífero de una composición que contiene (a) *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) y/o (b)
10 vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*).

Tal como se utiliza en la presente invención, una "vesícula" de una especie *Prevotella* puede referirse a cualquier vesícula de membrana producida por la especie *Prevotella*. En algunas modalidades, una vesícula de una especie *Prevotella* puede ser una vesícula de membrana externa. Las vesículas extracelulares producidas por las bacterias gramnegativas se
15 denominan típicamente vesículas de membrana externa (OMV). Sin estar obligado por ninguna teoría en particular, se cree que debido a que un microbio entero puede estar involucrado en otras funciones, el uso de vesículas (por ejemplo, OMV) de una especie de *Prevotella* puede reducir o eliminar cualquier efecto patógeno potencial en comparación con la bacteria intacta y viva.

En algunas modalidades, la administración de una composición que contenga
20 *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede incluir la administración de una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*), o una combinación de los mismos. En algunos casos, la administración de una composición que
25 contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) puede incluir la administración de una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos.

30 Tal y como se utiliza en la presente invención, un "componente" de una bacteria puede ser una parte o un trozo de una bacteria que no es una vesícula. En algunas modalidades, un componente de una bacteria puede ser un fragmento de una pared celular y/o una membrana. En algunas modalidades, un componente de una bacteria puede ser una proteína.

En algunas modalidades, se puede identificar que un mamífero tiene uno o más síntomas de una afección pulmonar (por ejemplo, EPOC) antes de administrar una composición que contenga (a) *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) y/o (b) vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*). Los ejemplos de síntomas de una afección pulmonar pueden variar en función de la afección, pero pueden incluir, sin limitación, dificultad para respirar, sibilancias, opresión y/o dolor en el pecho, tos, fiebre y ronquera. En algunos casos, un mamífero puede tener un historial de tabaquismo o de exposición al humo de los cigarrillos. En algunas modalidades, se puede identificar o diagnosticar que un mamífero tiene una afección pulmonar antes de administrarle una composición que contenga (a) *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) y/o (b) vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*).

En algunas modalidades, se puede identificar que un mamífero tiene uno o más síntomas de EPOC antes de administrar una composición que contiene *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*). En algunas modalidades, se puede identificar que un mamífero tiene uno o más síntomas de EPOC antes de administrar una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos.

Algunos ejemplos de síntomas de la EPOC son, entre otros, falta de aire, sibilancias, opresión en el pecho, tos crónica y cianosis. En algunos casos, un mamífero puede tener un historial de tabaquismo o de exposición al humo de los cigarrillos. En algunas modalidades, se puede identificar o diagnosticar que un mamífero tiene EPOC antes de administrarle una composición que contenga *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*). En algunas modalidades, se puede identificar o diagnosticar que un mamífero tiene EPOC antes de administrar una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos.

En algunas modalidades, se puede identificar o diagnosticar que un mamífero tiene enfisema antes de administrarle una composición que contenga *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*).

En algunas modalidades, se puede identificar o diagnosticar que un mamífero tiene enfisema antes de administrarle una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos. En algunas modalidades, un mamífero que tiene EPOC y enfisema puede tratarse mediante un método que incluye la administración de una composición que contiene *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*) al mamífero. En algunas modalidades, un mamífero que tiene EPOC y enfisema puede tratarse usando un método que incluye administrar una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos al mamífero.

En algunas modalidades, la *Prevotella* puede incluir *Prevotella histicola*. En algunas modalidades, la *Prevotella* puede ser predominantemente *Prevotella histicola*. En algunas modalidades, la *Prevotella* puede ser casi toda *Prevotella histicola*. En algunas modalidades, la *Prevotella* puede ser toda *Prevotella histicola*. En algunos casos, más del 80 por ciento (por ejemplo, más del 85, 90, 95 o 99 por ciento) de la *Prevotella* de una composición que se va a administrar a un mamífero como se describe en la presente invención puede ser *Prevotella histicola*.

En algunas modalidades, la *Prevotella* puede incluir *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, la *Prevotella* puede ser predominantemente *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, la *Prevotella* puede ser casi toda *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, la *Prevotella* puede ser toda *Prevotella melaninogenica*. En algunos casos, más del 80 por ciento (por ejemplo, más del 85, 90, 95 o 99 por ciento) de la *Prevotella* de una composición que se va a administrar a un mamífero como se describe en la presente invención puede ser *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden incluir vesículas de *Prevotella histicola*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden incluir predominantemente vesículas de *Prevotella histicola*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden ser casi todas vesículas de *Prevotella histicola*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden ser todas vesículas de *Prevotella histicola*. En algunos casos, más del 80 por ciento (por ejemplo, más del 85, 90, 95 o 99 por ciento) de las

vesículas de *Prevotella* de una composición que se va a administrar a un mamífero como se describe en la presente invención pueden ser vesículas de *Prevotella histicola*.

En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden incluir vesículas de *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden incluir predominantemente vesículas de *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden ser casi todas vesículas de *Prevotella melaninogenica*. En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden ser todas vesículas de *Prevotella melaninogenica*. En algunos casos, más del 80 por ciento (por ejemplo, más del 85, 90, 95 o 99 por ciento) de las vesículas de *Prevotella* de una composición que se va a administrar a un mamífero como se describe en la presente invención pueden ser vesículas de *Prevotella melaninogenica*.

En algunas modalidades, las vesículas de la especie *Prevotella* pueden incluir vesículas de *Prevotella histicola* y vesículas de *Prevotella melaninogenica*, en cualquier proporción adecuada (por ejemplo, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60 o 30:70).

Algunas bacterias *Prevotella* forman parte del microbioma humano, aunque en algunos casos, algunas bacterias *Prevotella* pueden ser patógenas u oportunistas; véase, por ejemplo, Steenhuijsen Piters et al., "Dysbiosis of upper respiratory tract microbiota in elderly pneumonia patients". *ISME J.*, 10:97-108 (2016). doi: 10.1038/ismej.2015.99.

Los métodos proporcionados en la presente invención pueden realizarse en cualquier mamífero apropiado. Por ejemplo, en algunas modalidades, el mamífero puede ser un humano. Los ejemplos de mamíferos que tienen una afección pulmonar que puede tratarse como se describe en la presente invención incluyen, sin limitación, humanos, monos, caballos, especies bovinas, cerdos, perros, gatos, cabras, ovejas, conejos, cobayas, ratas y ratones. Los ejemplos de mamíferos con EPOC y/o enfisema que pueden tratarse como se describe en la presente invención incluyen, sin limitación, seres humanos, monos, caballos, especies bovinas, cerdos, perros, gatos, cabras, ovejas, conejos, cobayas, ratas y ratones.

La administración de una composición que contenga *Prevotella* viva y/o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*) puede realizarse de cualquier manera apropiada. Por ejemplo, una composición proporcionada en la presente invención que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) vivos) puede administrarse como se describe en otra parte para las bacterias probióticas (véase, por ejemplo, los párrafos [0049]-[0108] de la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226; y la columna 5, línea 53 a la columna 8, línea 8 de la Patente de EE.UU. No. 8,617,536, ambas incorporadas aquí por referencia en su totalidad).

En algunas modalidades, una composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) descrita en la presente invención puede administrarse por vía oral. En algunas modalidades, la composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) descrita en la presente invención puede administrarse en forma de píldora, comprimido o cápsula. En algunas modalidades, una píldora, comprimido o cápsula puede configurarse para entregar la *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) a los intestinos del mamífero.

En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) descrita en la presente invención puede administrarse al sistema respiratorio del mamífero. En algunas modalidades, una composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) descrita en la presente invención puede administrarse por vía nasal. Una composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) como se describe en la presente invención puede administrarse al sistema respiratorio del mamífero utilizando cualquier dispositivo o método apropiado. Por ejemplo, una composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) descrita en la presente invención puede administrarse al sistema respiratorio del mamífero utilizando un aerosol nasal, un inhalador (por ejemplo, un inhalador de dosis medida o un inhalador de polvo seco) o un nebulizador (por ejemplo, un nebulizador de chorro, un nebulizador ultrasónico o un nebulizador de malla vibratoria). En algunas modalidades, una composición que comprende *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) como se describe en la presente invención puede administrarse por vía intranasal.

Administrar una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede realizarse de cualquier manera apropiada. Por ejemplo, una composición proporcionada en la presente invención que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las mismas puede administrarse como se describe en otros lugares para las bacterias probióticas (véanse, por ejemplo, los párrafos [0049]- [0108] de la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226; y la columna 5, línea 53 a la columna 8, línea 8 de la Patente de EE.UU. No. 8,617,536, ambas incorporadas aquí por referencia en su totalidad).

En algunas modalidades, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo,

P. histicola y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos descritos en la presente invención
5 pueden administrarse por vía oral. En algunas modalidades, la composición *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos, como se describe en
10 la presente invención, pueden administrarse en forma de píldora, comprimido o cápsula. En algunas modalidades, una píldora, comprimido o cápsula puede configurarse para administrar la *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), la *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de
15 *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos a los intestinos del mamífero. En algunas modalidades, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de
20 *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos descritos en la presente invención pueden ser administrados por vía intranasal.

En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*),
25 *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos, como se describe en la presente invención, pueden administrarse al sistema respiratorio del mamífero. En algunas modalidades, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos descritos en la presente invención
30 pueden administrarse por vía nasal. Una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo,

P. histicola y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos como se describe en la presente invención puede ser administrado al sistema respiratorio del mamífero utilizando cualquier dispositivo o método apropiado. Por ejemplo, una composición de *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las mismas, como se describe en la presente invención, pueden administrarse al sistema respiratorio del mamífero mediante un aerosol nasal, un inhalador (por ejemplo, un inhalador de dosis medida o un inhalador de polvo seco) o un nebulizador (por ejemplo, un nebulizador de chorro, un nebulizador ultrasónico o un nebulizador de malla vibratoria).

Se puede utilizar cualquier esquema de dosificación apropiado para tratar una afección pulmonar como se describe en la presente invención. Se puede utilizar cualquier esquema de dosificación apropiado para tratar EPOC y/o el enfisema tal como se describe en la presente invención. Por ejemplo, una composición proporcionada en la presente invención puede administrarse una vez al día, dos veces al día, tres veces al día o cuatro veces al día, con o sin alimentos.

La administración de una composición descrita en la presente invención puede tener lugar durante cualquier período de tiempo apropiado. Por ejemplo, una composición descrita en la presente invención puede administrarse durante un periodo de 1 semana a aproximadamente 10 semanas (por ejemplo, de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 8 semanas, de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 2 semanas, de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 8 semanas, de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 10 semanas, de aproximadamente 4 semanas a aproximadamente 10 semanas, de aproximadamente 8 semanas a aproximadamente 10 semanas, de aproximadamente 2 semanas a aproximadamente 8 semanas, o de aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 5 semanas). Como otro ejemplo, una composición descrita en la presente invención puede administrarse durante un periodo de al menos aproximadamente 2 semanas (por ejemplo, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas, al menos aproximadamente 12 semanas, al menos aproximadamente 18 semanas o al menos

aproximadamente 24 semanas). En algunos casos, una composición descrita en la presente invención puede administrarse mientras el mamífero esté vivo.

En algunos casos, un mamífero que recibe una composición descrita en la presente invención puede ser monitorizado para determinar el efecto de la composición en la función pulmonar (por ejemplo, para confirmar la reducción de uno o más síntomas de una afección pulmonar como la EPOC). Antes, durante (por ejemplo, entre dosis) o después de la interrupción de la administración, la función pulmonar puede evaluarse utilizando cualquier método apropiado. Por ejemplo, la función pulmonar puede evaluarse midiendo la distensibilidad pulmonar (CST; también llamada distensibilidad pulmonar), el volumen pulmonar, la resistencia de las vías respiratorias o la elastancia. Se puede utilizar cualquier método apropiado para medir una función pulmonar. En algunos casos, una medida de la función pulmonar puede compararse entre dos puntos temporales (por ejemplo, antes de administrar una composición descrita en la presente invención y después de una o más semanas de administración; entre una dosis y una dosis posterior; o antes de administrar y después de dejar de administrar) para determinar si hubo un cambio en la medida de la función pulmonar. En algunas modalidades de los métodos proporcionados en la presente invención, los métodos pueden incluir la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes, durante o después de administrar una composición descrita en la presente invención (por ejemplo, después de administrar una composición descrita en la presente invención durante al menos 1 semana (por ejemplo, al menos 2, 4, 8, 12, 18 o 24 semanas). En algunas modalidades, los uno o más parámetros de la función pulmonar después de administrar una composición descrita en la presente invención (por ejemplo, después de administrar una composición descrita en la presente invención durante al menos 1 semana (por ejemplo, al menos 2, 4, 8, 12, 18 o 24 semanas) pueden mejorar en comparación con los mismos uno o más parámetros de la función pulmonar antes de administrar una composición descrita en la presente invención. En algunas modalidades, la distensibilidad pulmonar del mamífero (por ejemplo, un humano) puede disminuir al menos en aproximadamente un 5% (por ejemplo, al menos en aproximadamente un 6%, 8%, 10% o 15%) después de administrar una composición descrita en la presente invención (por ejemplo, después de administrar una composición descrita en la presente invención durante al menos 1 semana (por ejemplo, al menos 2, 4, 8, 12, 18 o 24 semanas)) en comparación con antes de administrar una composición descrita en la presente invención. En algunas modalidades de los métodos proporcionados en la presente invención, la gravedad de la afección pulmonar, como la EPOC, puede reducirse tras la administración de una composición descrita en la presente

invención. Por ejemplo, en algunas modalidades, la gravedad del enfisema puede reducirse en más del 25%, más del 50% o más del 75% después de administrar una composición descrita en la presente invención. La reducción de la gravedad del enfisema puede determinarse mediante cualquier método apropiado. Por ejemplo, la reducción de la gravedad del enfisema puede determinarse midiendo la distensibilidad pulmonar.

Cualquier composición apropiada que contenga *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede utilizarse como se describe en la presente invención. Cualquier composición adecuada que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden ser utilizados como se describe aquí.

Los ejemplos de composiciones que contienen *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) que pueden utilizarse como se describe en la presente invención para tratar la EPOC y/o el enfisema incluyen, sin limitación, los descritos en la sección que se extiende desde la columna 5, línea 53 hasta la columna 8, línea 8 de la Patente de EE.UU. No. 8,617,536, incorporada en la presente invención por referencia en su totalidad. Ejemplos de composiciones que contienen *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos) que pueden utilizarse como se describe en la presente invención para tratar la EPOC y/o el enfisema incluyen, sin limitación, los descritos en la sección que se extiende desde la columna 5, línea 53 hasta la columna 8, línea 8 de la Patente de Estados Unidos No. 8,617,536, incorporada en la presente invención por referencia en su totalidad.

Los ejemplos de composiciones que contienen *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) que pueden usarse como se describe en la presente invención para tratar una afección pulmonar incluyen, sin limitación, las descritas en la sección que se extiende desde la columna 5, línea 53 hasta la columna 8, línea 8 de la Patente de EE.UU. No. 8,617,536, incorporada en la presente invención por referencia en su totalidad. Ejemplos de composiciones que contienen *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una

combinación de los mismos) que pueden utilizarse como se describe en la presente invención para tratar una afección pulmonar incluyen, sin limitación, los descritos en la sección que se extiende desde la columna 5, línea 53 hasta la columna 8, línea 8 de la Patente de EE.UU. No. 8,617,536, incorporada al presente documento por referencia en su totalidad.

5 Brevemente, las composiciones que contienen *Prevotella* pueden incluir *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (también llamada muerta) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* lisada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por
10 ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las mismas. Tales composiciones pueden contener cualquier cantidad apropiada de componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos. En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención puede contener *Prevotella* viva (por ejemplo, *P.*
15 *histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos en una cantidad tal que entre 0.001 y 100 por ciento (por ejemplo, entre 1 y 95 por ciento, entre 10 y 95 por ciento, entre 25 y 95 por
20 ciento, entre 50 y 95 por ciento, entre 20 y 80 por ciento, entre 50 y 95 por ciento, entre 60 y 95 por ciento, entre 70 y 95 por ciento, entre 80 y 95 por ciento, entre 90 y 95 por ciento, entre 95 y 99 por ciento, entre 50 y 100 por ciento, entre 60 y 100 por ciento, entre 70 y 100 por ciento, entre 80 y 100 por ciento, entre 90 y 100 por ciento, o entre 95 y 100 por ciento), en peso seco, de la composición puede ser *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P.*
25 *melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos. En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención puede contener entre aproximadamente 10 y aproximadamente 10^{14} microorganismos de *Prevotella* vivos (por ejemplo, *P. histicola*). En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención puede contener
30 cualquier cantidad apropiada de vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*).

En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención puede contener *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*), *P. melaninogenica*, o una combinación de los mismos (por ejemplo, *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola*), o *P. melaninogenica*,

microorganismos, *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola*), o *P. melaninogenica*, *microorganismos*, o una combinación de los mismos) en las cantidades y dosis descritas en otra parte para las bacterias probióticas (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226, incorporada aquí por referencia en su totalidad; véanse, por ejemplo, los

5 párrafos [0049-0103]). En algunos casos, una composición proporcionada en el presente documento puede contener *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las

10 mismas en las cantidades y dosis descritas en otra parte para las bacterias probióticas (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226, incorporada aquí por referencia en su totalidad; ver, por ejemplo, los párrafos [0049-0103]). Puede utilizarse cualquier dosis apropiada. Por ejemplo, una dosis de *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola*) puede ser de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} unidades

15 formadoras de colonias (UFC) (por ejemplo, aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{12} , aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{10} , aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^3 , aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^5 , aproximadamente 1×10^5 a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^9 , aproximadamente 10^7 a aproximadamente 10^8 , aproximadamente $1 \times$

20 10^8 a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 1×10^{10} a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 1×10^{12} a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 1×10^5 a aproximadamente 1×10^{12} , o aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} UFC). En algunos casos, una dosis de *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) puede ser de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} CFU

25 (e.g., aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{12} , aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{10} , aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^3 , aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^5 , aproximadamente 1×10^5 a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^9 , aproximadamente 10^7 a aproximadamente 10^8 , aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 1×10^{10} a aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 1×10^{12} a

30 aproximadamente 1×10^{14} , aproximadamente 1×10^5 a aproximadamente 1×10^{12} , o aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} CFU). Se entenderá que una dosis de *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) puede ser equivalente a una dosis de *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), a pesar de

que la *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) no pueda formar colonias.

Una dosis de vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) puede ser cualquier dosis apropiada. Por ejemplo, una dosis de vesículas de una especie de *Prevotella puede ser* de aproximadamente 10 mg de OMV LPS (lipopolisacárido) a aproximadamente 1000 mg de OMV LPS (por ejemplo, aproximadamente 10 mg de OMV LPS a aproximadamente 50 mg de OMV LPS, aproximadamente 10 mg de OMV LPS a aproximadamente 100 mg de OMV LPS, aproximadamente 10 mg de OMV LPS a aproximadamente 500 mg de OMV LPS, aproximadamente 50 mg de OMV LPS a aproximadamente 1000 mg de OMV LPS, aproximadamente 100 mg de OMV LPS a aproximadamente 1000 mg de OMV LPS, aproximadamente 500 mg de OMV LPS a aproximadamente 1000 mg de OMV LPS, o aproximadamente 50 mg de OMV LPS a aproximadamente 500 mg de OMV LPS, o aproximadamente 50 mg de OMV LPS a aproximadamente 250 mg de OMV LPS).

En algunos casos, la dosis puede variar a lo largo del tratamiento (por ejemplo, se pueden utilizar una o más dosis de carga altas, seguidas de una o más dosis más bajas). Se apreciará que una dosis apropiada puede verse afectada por varios factores, incluyendo la edad, el peso o la gravedad de los síntomas de un mamífero a tratar.

Los microorganismos *Prevotella* vivos (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden obtenerse del sistema digestivo de cualquier mamífero apropiado (por ejemplo, un humano). Por ejemplo, los microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) pueden aislarse de la mucosa del intestino delgado (por ejemplo, una biopsia del intestino delgado o una muestra de aspirado) de un humano (por ejemplo, un paciente humano diagnosticado de enfermedad celíaca). Las cepas de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden identificarse por cualquier método apropiado, por ejemplo, mediante PCR de ARNr 16S utilizando cebadores estándar de ARNr 16S. Una secuencia de ARNr 16S utilizada para identificar *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede ser la establecida en la Figura 4 (por ejemplo, SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 2). En algunos casos, los microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) pueden obtenerse de la Colección de Cultivos del ARS (número de acceso NRRL B-50329, depositado el 28 de octubre de 2009). Se puede utilizar cualquier método apropiado para obtener un cultivo de microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*). Por ejemplo, pueden utilizarse técnicas estándar de cultivo microbiano para obtener componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P.*

histicola y/o *P. melaninogenica*). En general, los microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden cultivarse en un caldo que contenga leche (por ejemplo, leche desnatada) para obtener un cultivo que contenga más de 1×10^8 de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) por mL de caldo. Los microorganismos

5 *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden extraerse del caldo mediante centrifugación. Una vez obtenidos, los microorganismos *Prevotella* vivos (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden formularse en una composición de medicamento o suplemento nutricional para su administración a un mamífero (por ejemplo, un humano), pueden añadirse a un producto alimenticio para su consumo, o pueden

10 congelarse para su uso posterior. En algunos casos, los microorganismos *Prevotella* obtenidos (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden tratarse (por ejemplo, tratamiento químico, ciclos repetidos de congelación-descongelación, tratamiento antibiótico, un tratamiento de fijación como el tratamiento con formalina, irradiación, inactivación por calor y/o liofilización) para obtener una composición de *Prevotella* inactivada o lisada (por

15 ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) o puede procesarse (por ejemplo, lisado seguido de fraccionamiento) para obtener una composición de componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*).

En algunos casos, un preparado de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), que puede almacenarse congelada en leche desnatada 2X, puede

20 descongelarse y cultivarse en Agar de Sangre de Carnero Lacada para Anaerobios del CDC con kanamicina y vancomicina (KV) (Becton, Dickson and Company, Sparks, MD, número de producto 221846) en un frasco de anaerobios con un sistema AnaeroPack (número de producto 10-01, Mitsubishi Gas Chemical America, Inc., Nueva York, NY). El cultivo puede incubarse a 35- 37°C durante al menos 48 horas.

25 Las vesículas (por ejemplo, OMV) de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden obtenerse por cualquier método apropiado. Por ejemplo, en algunos casos, las vesículas de una especie de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) pueden obtenerse filtrando (por ejemplo, para eliminar las bacterias) un sobrenadante de cultivo de la especie de *Prevotella* (por ejemplo, resultante de

30 una centrifugación de menor fuerza, como $10k \times g$), aislando las vesículas por centrifugación (por ejemplo, utilizando una centrifugación de mayor fuerza, como $400k \times g$), y opcionalmente lavando las vesículas.

Una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede, en algunos casos, estar en forma de

medicamento oral o suplemento nutricional. Por ejemplo, las composiciones que contienen componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) pueden estar en forma de píldora, comprimido, polvo, líquido o cápsula. Los comprimidos o cápsulas pueden prepararse por cualquier método apropiado con excipientes farmacéuticamente aceptables, como agentes aglutinantes, rellenos, lubricantes, desintegrantes o agentes humectantes. Los comprimidos pueden recubrirse por métodos conocidos en la técnica. Una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede, en algunos casos, estar en forma de un medicamento oral o suplemento nutricional. Por ejemplo, las composiciones que contienen *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos, pueden presentarse en forma de píldora, comprimido, polvo, líquido o cápsula.

En algunos casos, una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede formularse de manera que los componentes vivos o muertos de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) se encapsulen para su liberación dentro de los intestinos de un mamífero. En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede formularse de manera que *Prevotella* viva (p. ej, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las mismas se encapsulan para su liberación dentro de los intestinos de un mamífero.

Las preparaciones líquidas para la administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para su constitución con solución salina u otro vehículo líquido adecuado antes de su uso. En

algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) vivos, microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) muertos, o una combinación de los mismos) puede estar en una forma de dosificación como se describe en otra parte (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226; véanse, por ejemplo, los párrafos [0129-0135]). Por ejemplo, una composición proporcionada en la presente invención puede estar en forma de un producto alimenticio formulado para contener *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, microorganismos *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) vivos) o componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*). En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (p. ej, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede estar en una forma de dosificación como se describe en otra parte (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226; véase, por ejemplo, los párrafos [0129-0135]). Por ejemplo, una composición proporcionada en la presente invención puede estar en forma de un producto alimenticio formulado para contener *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos. Ejemplos de tales productos alimenticios incluyen, sin limitación, leche (por ejemplo, leche acidificada), yogur, leche en polvo, té, zumo, bebidas, caramelos, chocolates, barras masticables, galletas, obleas, galletas saladas, cereales, golosinas y combinaciones de los mismos.

En algunos casos, una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede, en algunos casos, estar en forma de un medicamento para la administración al sistema respiratorio, por ejemplo, para la administración nasal o para la administración pulmonar. En algunos casos, una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede proporcionarse en forma de un aerosol nasal, un inhalador (por ejemplo, un inhalador de dosis medida o un inhalador de polvo seco), o una formulación para nebulización (por ejemplo, para su uso en un nebulizador de chorro, un nebulizador ultrasónico o un nebulizador de malla vibratoria). En algunos casos, una composición que

contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede, en algunos casos, estar en la forma de un medicamento para la administración al sistema respiratorio, por ejemplo, para la administración nasal o para la administración pulmonar. En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las mismas puede proporcionarse en forma de aerosol nasal, inhalador (por ejemplo, un inhalador de dosis medida o un inhalador de polvo seco), o una formulación para nebulización (por ejemplo, para su uso en un nebulizador de chorro, un nebulizador ultrasónico o un nebulizador de malla vibratoria). Estas formulaciones pueden formarse por cualquier método apropiado utilizando excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas de dichas formulaciones, los componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) pueden estar presentes en cualquier dosis apropiada. En algunas de estas formulaciones, *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede estar presente en cualquier dosis apropiada.

Una composición que contenga componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede contener otros ingredientes como tampones, eliminadores de radicales, antioxidantes, agentes reductores o mezclas de los mismos. Por ejemplo, una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola*) puede formularse para contener productos botánicos, vitaminas, minerales o combinaciones de los mismos. En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, microorganismos *Prevotella* vivos (por ejemplo, *P. histicola*), microorganismos *Prevotella* muertos (por ejemplo, *P. histicola*), o una combinación de los mismos) puede contener otros ingredientes como se describe en otra parte (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226; véanse, por ejemplo, los párrafos [0104-0128]).

Una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos puede contener otros ingredientes como tampones, eliminadores de radicales, antioxidantes, agentes reductores, o mezclas de los mismos. Por ejemplo, una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden formularse para contener productos botánicos, vitaminas, minerales o combinaciones de los mismos. En algunos casos, una composición proporcionada en la presente invención que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden contener otros ingredientes como se describe en otra parte (Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. No. 2008/0241226; véase, por ejemplo, los párrafos [0104-0128]).

En algunos casos, una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede contener un portador farmacéuticamente aceptable para su administración a un mamífero, incluyendo, sin limitación, soluciones acuosas o no acuosas estériles, suspensiones y emulsiones. En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden contener un portador farmacéuticamente aceptable para su administración a un mamífero, incluyendo, sin limitación, soluciones acuosas o no acuosas estériles, suspensiones y emulsiones. Los ejemplos de disolventes no acuosos incluyen, sin limitación, propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales y ésteres orgánicos. Los portadores acuosos incluyen, sin limitación, agua, alcohol, solución salina y soluciones tamponadas. Los portadores farmacéuticamente aceptables también pueden incluir vehículos acuosos fisiológicamente aceptables (por ejemplo, solución salina fisiológica) u otros

portadores conocidos para administración oral.

La presente invención también proporciona métodos y materiales para utilizar una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos como medicamento para una afección pulmonar. En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden ser utilizados como un suplemento nutricional para complementar la dieta de un mamífero con organismos bacterianos que tienen la capacidad de reducir la gravedad o el desarrollo de una condición pulmonar. Los ejemplos de mamíferos que pueden tratarse como se describe en la presente invención incluyen, sin limitación, seres humanos, monos, perros, gatos, vacas, caballos, cerdos y ovejas.

La presente invención también proporciona métodos y materiales para utilizar una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) como un medicamento para la EPOC. En algunos casos, una composición que contiene componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede utilizarse como suplemento nutricional para complementar la dieta de un mamífero con organismos bacterianos que tienen la capacidad de reducir la gravedad o el desarrollo de la EPOC. Los ejemplos de mamíferos que pueden ser tratados como se describe en la presente invención incluyen, sin limitación, a los seres humanos, monos, perros, gatos, vacas, caballos, cerdos y ovejas.

La presente invención también proporciona métodos y materiales para utilizar una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos como medicamento para la EPOC. En algunos casos, una composición que contiene *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs)

de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden ser utilizados como un suplemento nutricional para complementar la dieta de un mamífero con organismos bacterianos que tienen la capacidad de reducir la gravedad o el desarrollo de la EPOC. Los ejemplos de mamíferos que pueden tratarse como se describe en la presente invención incluyen, sin limitación, seres humanos, monos, perros, gatos, vacas, caballos, cerdos y ovejas.

Puede administrarse a un mamífero cualquier cantidad de una composición que contenga componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*). Las dosis de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, *Prevotella* viva o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*)) o componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) pueden depender de muchos factores, incluidos los resultados deseados. Típicamente, la cantidad de componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, *Prevotella* viva o inactivada (por ejemplo, *P. histicola*)) o *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) contenida en una sola dosis puede ser una cantidad que exhiba efectivamente actividad antiinflamatoria dentro del mamífero. Por ejemplo, una composición que contenga *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) viva puede formularse en una dosis tal que un mamífero reciba entre aproximadamente 10 y 10^{14} microorganismos de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) vivos.

Cualquier cantidad de una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de los mismos pueden ser administrados a un mamífero. Las dosis de *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* muerta (o inactivada) (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de estos componentes puede depender de muchos factores incluyendo los resultados deseados. Típicamente, la cantidad de *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMVs) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de las mismas contenidas en una sola dosis puede ser una cantidad que efectivamente exhiba actividad antiinflamatoria dentro del mamífero. Por

ejemplo, una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*) puede formularse en una dosis tal que un mamífero reciba entre unos 10 y 10¹⁴ microorganismos *Prevotella* vivos (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*).

El pH final de una composición que contiene *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) (por ejemplo, *Prevotella* viva o inactivada) o componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola*) puede estar entre aproximadamente 3.5 y aproximadamente 9.5 (por ejemplo, entre aproximadamente 4.0 y aproximadamente 9.0; entre aproximadamente 4.5 y aproximadamente 9.0; entre aproximadamente 4.5 y aproximadamente 8.5; entre aproximadamente 5.0 y aproximadamente 8.5; o entre aproximadamente 6.5 y aproximadamente 8.0). El pH final de una composición que contenga *Prevotella* viva (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), *Prevotella* inactivada (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), componentes de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), vesículas (por ejemplo, OMV) de *Prevotella* (por ejemplo, *P. histicola* y/o *P. melaninogenica*), o una combinación de ellas puede estar entre aproximadamente 3.5 y aproximadamente 9.5 (por ejemplo, entre aproximadamente 4.0 y aproximadamente 9.0; entre aproximadamente 4.5 y aproximadamente 9.0; entre aproximadamente 4.5 y aproximadamente 8.5; entre aproximadamente 5.0 y aproximadamente 8.5; o entre aproximadamente 6.5 y aproximadamente 8.0). Para obtener dicho pH, el pH de la composición puede ajustarse utilizando un agente de ajuste del pH, por ejemplo. Se apreciará que el ajuste del pH puede lograrse con cualquiera de una amplia variedad de ácidos en caso de que la composición tenga un pH demasiado alto (por ejemplo, superior a 10.0 antes del ajuste). Del mismo modo, el ajuste del pH puede realizarse con cualquiera de una amplia variedad de bases si la composición tiene un pH demasiado bajo (por ejemplo, menos de 3.0 antes del ajuste).

Los modelos animales no humanos de enfisema inducido por el HC pueden, en algunos casos, arrojar luz sobre los mecanismos; sin embargo, la información disponible sobre el papel del microbioma pulmonar es limitada. Los modelos de animales no humanos pueden requerir entre 4 y 6 meses de exposición al HC, lo cual es una tarea ardua (véase, por ejemplo, Wright, J. L., y A. Churg. *Expert Rev Respir Med* 4: 723-734, 2010), y a veces las respuestas inmunitarias en modelos animales no reproducen la respuesta efectoria humana.

La presente invención también proporciona un modelo animal no humano de EPOC. Tales modelos animales no humanos pueden ser cualquier especie animal apropiada. En algunas modalidades, un modelo animal no humano puede ser un mamífero no humano. Los ejemplos de animales no humanos que pueden utilizarse para realizar un modelo descrito en

la presente invención incluyen, sin limitación, roedores, conejos, perros, gatos, vacas, cerdos, ovejas, cabras y primates no humanos. Por ejemplo, en algunos casos, el animal no humano puede ser un roedor (por ejemplo, un ratón, una rata o una cobaya). En otro ejemplo, el animal no humano puede ser un conejo. En otro ejemplo, el animal no humano puede ser un primate no humano.

Un modelo animal no humano de EPOC puede diseñarse genéticamente para alterar uno o más aspectos del genoma del animal no humano, por ejemplo, para reproducir una respuesta efectoria humana (véase, por ejemplo, Taneja, V., y C. S. David. *Immunological reviews* 233: 62-78. (2010)). En algunos casos, un modelo animal no humano puede diseñarse para expresar uno o más antígenos leucocitarios humanos (HLA) (por ejemplo, el serotipo DQ8). En algunos casos, un modelo animal no humano descrito en la presente invención puede diseñarse para carecer de la capacidad de expresar moléculas endógenas funcionales del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II. En algunos casos, un animal no humano descrito en la presente invención puede diseñarse para carecer de la capacidad de expresar polipéptidos de interleucina 17 (IL-17) endógenos funcionales. Por ejemplo, un modelo animal no humano de EPOC descrito en la presente invención puede diseñarse (a) para expresar uno o más HLA humanos (por ejemplo, DQ8), (b) para carecer de la capacidad de expresar moléculas MHC de clase II endógenas funcionales, y (c) para carecer de la capacidad de expresar polipéptidos de IL-17 endógenos funcionales. Tal como se utiliza en la presente invención, un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención que exprese DQ8 y carezca de moléculas MHC de clase II endógenas puede anotarse como "AEo.DQ8" o "DQ8"; un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención que carece de IL-17 funcional puede ser anotado como "IL-17^{-/-}"; y un modelo animal no humano de EPOC que expresa DQ8, carece de expresión de moléculas MHC clase II endógenas funcionales, y carece de expresión de IL-17 endógena funcional puede ser anotado como "DQ8.IL-17^{-/-}".

En algunas modalidades, un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención puede ser un animal que estuvo expuesto al humo del cigarro (HC) durante un período de tiempo, como un período de tiempo inferior a aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, menos de aproximadamente 5 semanas, menos de aproximadamente 4 semanas). En algunas modalidades, un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención puede ser un animal que fue expuesto al humo del cigarro (HC) durante aproximadamente 3 a aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 3 a aproximadamente 4 semanas,

aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, o aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 4 semanas, o aproximadamente 5 semanas). En algunas modalidades, un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención puede mostrar una pérdida de la función pulmonar (por ejemplo, en comparación con un animal similar (por ejemplo, del mismo genotipo) que fue expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro). La pérdida de función pulmonar puede determinarse en base a cualquier medida apropiada, como distensibilidad pulmonar (CST; también llamada distensibilidad pulmonar), volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias y elastancia, según se determine por cualquier método apropiado. En algunas modalidades, un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención (por ejemplo, un ratón DQ8.IL-17^{-/-}) que fue expuesto a HC puede tener un nivel alterado de expresión de uno o más genes en comparación con un animal no humano similar expuesto al aire en lugar de HC (véase, por ejemplo, Barnes, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 138:16-27 (2016)). En algunas modalidades, un modelo animal no humano de EPOC proporcionado en la presente invención (por ejemplo, un ratón DQ8.IL-17^{-/-}) que se expuso a HC puede tener un aumento en la expresión (por ejemplo, medido por el nivel de ARNm) en el receptor de quimiocina 3 con motivo de C-X-C (CXCR3), el ligando de quimiocina 10 con motivo de C-X-C (CXCL10), o ambos en comparación con un animal no humano similar expuesto al aire en lugar de HC. En algunas modalidades, un modelo animal no humano de enfisema proporcionado en la presente invención (por ejemplo, un ratón DQ8.IL-17^{-/-}) que fue expuesto a HC puede tener una disminución en la expresión (por ejemplo, medida por el nivel de ARNm usando cualquier método apropiado) en genes asociados a la fibrosis, como colágeno α1 (Coll α1), fibronectina (Fib) y factor de crecimiento transformante beta (TGFβ) en comparación con un animal no humano similar expuesto al aire en lugar de HC.

Los animales no humanos (por ejemplo, los ratones) que expresan el HLA-DQ8 humano y carecen de la expresión de las moléculas de clase II endógenas (por ejemplo, los ratones AEo.DQ8) cuando se exponen al HC desde aproximadamente 3 semanas hasta aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, de aproximadamente 4 semanas o de aproximadamente 5 semanas) pueden desarrollar una pérdida leve o moderada de la función pulmonar, una característica patológica de la EPOC, en comparación con animales

comparables expuestos al aire (por ejemplo, ratones AEo.DQ8 expuestos al aire), mientras que los animales no humanos (por ejemplo, ratones) que expresan HLA-DQ8 humano, carecen de expresión de moléculas de clase II endógenas y carecen de expresión de polipéptidos IL-17 endógenos (por ejemplo, ratones DQ8.IL-17^{-/-}) cuando se exponen a HC desde aproximadamente 3 semanas hasta aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, de aproximadamente 4 semanas o de aproximadamente 5 semanas) pueden desarrollar una pérdida más pronunciada de la función pulmonar en comparación con animales comparables expuestos al aire (por ejemplo, ratones DQ8.IL-17^{-/-} expuestos al aire). En algunos casos, los animales no humanos (por ejemplo, ratones) que expresan HLA-DQ8 humano, que carecen de expresión de moléculas de clase II endógenas y que carecen de expresión de polipéptidos de IL-17 endógenos (por ejemplo, ratones DQ8.IL-17^{-/-}) cuando se exponen a HC de aproximadamente 3 a aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, de aproximadamente 4 semanas o de aproximadamente 5 semanas) pueden desarrollar una pérdida más pronunciada de la función pulmonar en comparación con ratones similares con expresión de IL-17 endógena (por ejemplo, ratones AEo.DQ8 expuestos a HC).

La presente invención también proporciona métodos para generar modelos animales no humanos de EPOC. Para formar el modelo animal no humano descrito en la presente invención, se puede modificar genéticamente un animal no humano para que carezca de moléculas MHC de clase II endógenas. En algunos casos, el animal no humano puede modificarse además para que exprese uno o más antígenos leucocitarios humanos (HLA). En algunos casos, el animal no humano puede modificarse para que exprese el serotipo DQ8 de HLA, como se describe en otro lugar (véase, por ejemplo, Vassallo, R., et al. *Clin Immunol* 152: 25-35, 2014, véase también la patente estadounidense No. 5,965,787, por ejemplo, columna 10, líneas 25-44, que se incorpora aquí por referencia en su totalidad). Puede utilizarse cualquier técnica de modificación genética apropiada. Por ejemplo, pueden emplearse técnicas transgénicas, de manera que todas las células somáticas del animal no humano expresen DQ8 humano (véase, por ejemplo, Vassallo, R., et al. *Clin Immunol* 152:

25-35, 2014). Además, pueden eliminarse otros genes utilizando cualquier técnica apropiada. Por ejemplo, el ácido nucleico que codifica un polipéptido de IL-17 puede dejar de ser funcional (por ejemplo, "eliminado" o mutado) utilizando cualquier método apropiado. Por ejemplo, se puede utilizar una construcción con un gen desactivado (o knock-out) diseñada para interrumpir una secuencia de ácido nucleico endógena. La alteración puede situarse en cualquier sitio apropiado de una secuencia de ácido nucleico endógena. Los ejemplos de disrupciones incluyen, sin limitación, deleciones en la secuencia endógena e inserciones de secuencias de ácido nucleico heterólogas en la secuencia endógena. Los ejemplos de inserciones pueden incluir, sin limitación, aceptores de empalme artificiales acoplados a codones de parada o donantes de empalme acoplados a socios de fusión como GFP. Una construcción knock-out puede contener secuencias homólogas a la secuencia de ácido nucleico endógena o a secuencias adyacentes a la secuencia de ácido nucleico endógena. En algunos casos, una construcción knock-out puede contener una secuencia de ácido nucleico que codifica un marcador de selección (por ejemplo, resistencia a los antibióticos, un reportero fluorescente (por ejemplo, GFP o YFP), o una enzima (por ejemplo, β -galactosidasa)) vinculada operativamente a una secuencia reguladora (por ejemplo, un promotor). Una construcción knock-out puede incluir otras secuencias de ácido nucleico como secuencias de recombinación (por ejemplo, secuencias loxP), secuencias aceptantes de empalme, secuencias donantes de empalme, secuencias de inicio de transcripción y secuencias de parada de transcripción. Las alteraciones de la secuencia de ácido nucleico endógena pueden dar lugar a una expresión reducida del gen o a truncamientos o fusiones no funcionales del polipéptido codificado.

En algunas modalidades, un método para generar un modelo animal no humano de EPOC puede incluir proporcionar un animal no humano AEo.DQ8 (por ejemplo, un ratón AEo.DQ8) y someter al animal no humano al humo del cigarro durante aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 3 a aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, o aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 4 semanas o aproximadamente 5 semanas). En algunas modalidades, un método para generar un modelo animal no humano de EPOC puede incluir proporcionar un animal no humano DQ8.IL-17^{-/-} (por ejemplo, un ratón DQ8.IL-17^{-/-}) y someter al animal no humano al humo del cigarro durante aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 3 a aproximadamente

4 semanas, aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, o aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 4 semanas o aproximadamente 5 semanas). El sometimiento de un animal al humo del cigarro durante aproximadamente 3 a aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 5 semanas, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 semanas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 semanas, de aproximadamente 4 semanas o de aproximadamente 5 semanas) puede realizarse mediante cualquier método apropiado. En algunas modalidades, someter a un animal al humo del cigarro durante aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 6 semanas puede incluir la exposición de ratones al humo de aproximadamente dos cigarros cada 10 minutos durante aproximadamente 3 horas al día aproximadamente 5 días a la semana. En algunas modalidades, someter a un animal al humo del cigarro durante aproximadamente 3 semanas a aproximadamente 6 semanas puede incluir una exposición suficiente al humo del cigarro para dar lugar a niveles de nicotina en la sangre de aproximadamente 45 a aproximadamente 185 ng/mL (por ejemplo, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 185 ng/mL, entre aproximadamente 100 y aproximadamente 185 ng/mL, entre aproximadamente 150 y aproximadamente 185 ng/mL, entre aproximadamente 45 y aproximadamente 75 ng/mL, entre aproximadamente 45 y aproximadamente 100 ng/mL, entre aproximadamente 45 y aproximadamente 150 ng/mL, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 150 ng/mL, o entre aproximadamente 75 y aproximadamente 125 ng/mL) al final del periodo de exposición.

En algunas modalidades, un método para generar un modelo animal no humano de EPOC puede incluir proporcionar un animal no humano AEo.DQ8 (por ejemplo, un ratón AEo.DQ8) y someter al animal no humano al humo del cigarro durante menos de aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, menos de aproximadamente 5 semanas, menos de aproximadamente 4 semanas). En algunas modalidades, un método para generar un modelo animal no humano de EPOC puede incluir proporcionar un animal no humano DQ8.IL-17^{-/-} (por ejemplo, un ratón DQ8.IL-17^{-/-}) y someter al animal no humano al humo del cigarro durante menos de aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, menos de aproximadamente 5 semanas, menos de aproximadamente 4 semanas). El sometimiento de un animal al humo del cigarro durante menos de aproximadamente 6 semanas (por ejemplo, menos de aproximadamente 5 semanas, menos de aproximadamente 4 semanas) puede lograrse mediante cualquier método apropiado. En algunas modalidades, someter a un animal al humo

del cigarro durante menos de aproximadamente 6 semanas puede incluir la exposición de ratones al humo de aproximadamente dos cigarros cada 10 minutos durante aproximadamente 3 horas al día aproximadamente 5 días a la semana. En algunas modalidades, someter a un animal al humo del cigarro durante menos de aproximadamente 6 semanas puede incluir una
5 exposición suficiente al humo del cigarro para que los niveles de nicotina en la sangre sean de aproximadamente 45 a aproximadamente 185 ng/mL (por ejemplo, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 185 ng/mL, entre aproximadamente 100 y aproximadamente 185 ng/mL, entre aproximadamente 150 y aproximadamente 185 ng/mL, entre aproximadamente 45 y aproximadamente 75 ng/mL, entre aproximadamente 45 y aproximadamente 100 ng/mL,
10 entre aproximadamente 45 y aproximadamente 150 ng/mL, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 150 ng/mL, o entre 75 aproximadamente y 125 aproximadamente ng/mL) al final del periodo de exposición.

La invención se describirá con más detalle en los siguientes ejemplos, que no limitan el alcance de la invención descrita en las reivindicaciones.

Ejemplos de modalidades

La modalidad 1 es un método para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un mamífero, donde dicho método comprende administrar al mamífero una composición que comprende *Prevotella* viva o inactivada.

20 La modalidad 2 es el método de la modalidad 1, donde la composición comprende *Prevotella* viva.

La modalidad 3 es el método de la modalidad 1, donde la composición comprende *Prevotella* inactivada y no *Prevotella* viva.

25 La modalidad 4 es el método de cualquiera de las modalidades 1 a 3, donde el mamífero es un humano.

La modalidad 5 es el método de cualquiera de las modalidades 1 a 3, donde el mamífero es un roedor.

La modalidad 6 es el método de cualquiera de las modalidades 1-5, donde la administración comprende administración oral.

30 La modalidad 7 es el método de cualquiera de las modalidades 1-6, donde la composición es una píldora, un comprimido o una cápsula.

La modalidad 8 es el método de cualquiera de las modalidades 1-7, donde la composición es una píldora, un comprimido o una cápsula configurada para administrar la *Prevotella* a los intestinos del mamífero.

La modalidad 9 es el método de cualquiera de las modalidades 1-5, donde la administración comprende la administración al sistema respiratorio.

La modalidad 10 es el método de cualquiera de las modalidades 1-5 o 9, donde la composición se administra mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador.

5 La modalidad 11 es el método de cualquiera de las modalidades 1-10, donde la gravedad de un síntoma de dicha EPOC se reduce tras la administración.

La modalidad 12 es el método de la modalidad 11, donde la gravedad del síntoma de dicha EPOC se reduce en más de un 25 por ciento tras la administración.

10 La modalidad 13 es el método de la modalidad 11, donde la gravedad del síntoma de dicha EPOC se reduce en más de un 50 por ciento tras la administración.

La modalidad 14 es el método de la modalidad 11, donde la gravedad del síntoma de dicha EPOC se reduce en más de un 75% tras la administración.

La modalidad 15 es el método de cualquiera de las modalidades 11-14, donde la distensibilidad pulmonar de dicho mamífero disminuye tras dicha etapa de administración.

15 La modalidad 16 es el método de la modalidad 15, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración.

20 La modalidad 17 es el método de la modalidad 15, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración.

La modalidad 18 es el método de la modalidad 15, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración.

25 La modalidad 19 es el método de cualquiera de las modalidades 1-18, que comprende además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración.

30 La modalidad 20 es el método de la modalidad 19 donde al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos tras la administración mejora en comparación con antes de la administración.

La modalidad 21 es el método de cualquiera de las modalidades 19-20, donde uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

La modalidad 22 es el método de cualquiera de las modalidades 1-21, donde el

método comprende identificar que dicho mamífero tiene EPOC antes de dicha etapa de administración.

5 La modalidad 23 es el método de cualquiera de las modalidades 1-22, donde el método comprende identificar que dicho mamífero tiene enfisema antes de dicha etapa de administración.

La modalidad 24 es el método de cualquiera de las modalidades 1-23, donde las células representativas de la *Prevotella* se depositan como número de acceso NRRL B-50329.

10 La modalidad 25 es el método de cualquiera de las modalidades 1-24, donde la composición comprende entre 1×10^3 y 1×10^{14} UFC de *Prevotella*.

La modalidad 26 es el método de cualquiera de las modalidades 1-24, donde la composición comprende entre 1×10^5 y 1×10^{12} UFC de *Prevotella*.

La modalidad 27 es el método de cualquiera de las modalidades 1-24, donde la composición comprende entre 1×10^8 y 1×10^{10} UFC de *Prevotella*.

15 La modalidad 28 es el método de cualquiera de las modalidades 1-27, donde la composición se administra una vez al día.

La modalidad 29 es el método de cualquiera de las modalidades 1-27, donde la composición se administra dos veces al día.

20 La modalidad 30 es el método de cualquiera de las modalidades 1-27, donde la composición se administra tres veces al día.

La modalidad 31 es el método de cualquiera de las modalidades 1-30, donde la composición se administra durante un período de al menos aproximadamente 4 semanas.

La modalidad 32 es el método de cualquiera de las modalidades 1-30, donde la composición se administra durante un período de al menos aproximadamente 8 semanas.

25 La modalidad 33 es el método de cualquiera de las modalidades 1-32, donde la *Prevotella* comprende *Prevotella histicola*.

30 La modalidad 34 es un modelo de mamífero no humano de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), donde las células somáticas de dicho modelo de mamífero no humano comprenden ácido nucleico que codifica uno o más serotipos HLA humanos, y en el que las células somáticas de dicho modelo de mamífero no humano carecen de expresión de moléculas MHC de clase II endógenas y de polipéptidos IL-17 endógenos, y donde, cuando se expone al humo de los cigarros durante aproximadamente 2 a aproximadamente 6 semanas, dicho modelo presenta una disminución de la función pulmonar en comparación con un modelo comparable no expuesto al humo de los cigarros.

La modalidad 35 es el modelo de mamífero no humano de la modalidad 34, donde el serotipo HLA humano es DQ8.

5 La modalidad 36 es el modelo de mamífero no humano de la modalidad 34 o de la modalidad 35, donde el modelo es un mamífero con IL-17^{-/-} con un gen desactivado (knock-out).

La modalidad 37 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-36, donde el mamífero es un roedor.

La modalidad 38 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-37, donde el mamífero es un ratón.

10 La modalidad 39 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-38, donde el mamífero tiene un nivel de nicotina en sangre de aproximadamente 45 a aproximadamente 185 ng/mL.

15 La modalidad 40 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-39, donde el mamífero tiene un nivel de nicotina en sangre de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 ng/mL.

La modalidad 41 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-40, donde el mamífero tiene un mayor nivel de expresión de CXCR3, CXCL10, o ambos, en comparación con un mamífero comparable que no es un modelo animal no humano de EPOC.

20 La modalidad 42 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-41, el mamífero tiene un nivel de expresión disminuido en uno o más genes asociados a la fibrosis, en comparación con un mamífero comparable que no es un modelo animal no humano de EPOC.

25 La modalidad 43 es el modelo de mamífero no humano de la modalidad 42, donde al menos uno de los genes asociados a la fibrosis se selecciona del grupo que consiste en colágeno α1, fibronectina y factor de crecimiento transformante beta.

La modalidad 44 es el modelo de mamífero no humano de cualquiera de las modalidades 34-43, donde dicha disminución de la función pulmonar se mide utilizando uno o más parámetros de la función pulmonar.

30 La modalidad 45 es el modelo de mamífero no humano de la modalidad 44, donde uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

La modalidad 46 es un método para producir un modelo de mamífero no humano para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), el método comprende:

proporcionar un mamífero no humano, donde las células somáticas de dicho mamífero no humano comprenden ácido nucleico que codifica uno o más serotipos HLA humanos, y en donde la célula somática de dicho modelo de mamífero no humano carece de expresión de moléculas MHC de clase II endógenas y de polipéptido IL-17 endógeno; y

5 exponer al mamífero al humo del cigarro durante aproximadamente 3 a 6 semanas, produciendo así un modelo animal no humano para la EPOC.

La modalidad 47 es el método de la modalidad 46, donde el serotipo HLA humano es DQ8.

10 La modalidad 48 es el método de la modalidad 46 o de la modalidad 47, donde el mamífero es IL-17^{-/-}.

La modalidad 49 es el método de cualquiera de las modalidades 46-48, donde el mamífero es un roedor.

La modalidad 50 es el método de cualquiera de las modalidades 46-49, donde el mamífero es un ratón.

15 La modalidad 51 es el método de cualquiera de las modalidades 46-50, donde dicha exposición comprende exponer al mamífero a aproximadamente 2 cigarros aproximadamente 10 minutos durante aproximadamente 3 horas al día aproximadamente 5 días a la semana.

20 La modalidad 52 es el método de cualquiera de las modalidades 46-51, donde dicha exposición comprende una exposición suficiente al humo del cigarro para dar lugar a un nivel de nicotina en sangre de aproximadamente 45 a aproximadamente 185 ng/mL.

La modalidad 53 es el método de cualquiera de las modalidades 46-51, donde dicha exposición comprende una exposición suficiente al humo del cigarro para dar lugar a un nivel de nicotina en sangre de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 ng/mL.

25 La modalidad 54 es el método de cualquiera de las modalidades 46-53, donde después de la exposición, el mamífero tiene un nivel de expresión aumentado en CXCR3, CXCL10, o ambos, en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro.

30 La modalidad 55 es el método de cualquiera de las modalidades 46-54, donde tras la exposición, el mamífero tiene un nivel de expresión disminuido en uno o más genes asociados a la fibrosis, en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar de al humo del cigarro.

La modalidad 56 es el método de la modalidad 55, donde al menos uno de los genes asociados a la fibrosis se selecciona del grupo que consiste en colágeno α1, fibronectina y factor de crecimiento transformante beta.

La modalidad 57 es el método de cualquiera de las modalidades 46-55, donde después de la exposición, el mamífero tiene una disminución de la función pulmonar en comparación con un mamífero similar expuesto al aire en lugar del humo del cigarro.

5 La modalidad 58 es el método de la modalidad 57, donde dicha disminución de la función pulmonar se mide utilizando uno o más parámetros de la función pulmonar.

La modalidad 59 es el método de la modalidad 58, donde uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

10 La modalidad 60 es un modelo de mamífero no humano de EPOC producido por el método de cualquiera de las modalidades 46-59.

La modalidad 61 es un método para tratar una afección pulmonar en un mamífero, donde dicho método comprende administrar al mamífero una composición que comprende *Prevotella* viva o inactivada.

15 La modalidad 62 es el método de la modalidad 61, donde la composición comprende *Prevotella* viva.

La modalidad 63 es el método de la modalidad 61, donde la composición comprende *Prevotella* inactivada y no *Prevotella* viva.

La modalidad 64 es el método de cualquiera de las modalidades 61-63, donde el mamífero es un humano.

20 La modalidad 65 es el método de cualquiera de las modalidades 61-63, donde el mamífero es un roedor.

La modalidad 66 es el método de cualquiera de las modalidades 61-65, donde la administración comprende administración oral.

25 La modalidad 67 es el método de cualquiera de las modalidades 61-66, donde la composición es una píldora, un comprimido o una cápsula.

La modalidad 68 es el método de cualquiera de las modalidades 61-67, donde la composición es una píldora, tableta o cápsula configurada para administrar la *Prevotella* a los intestinos del mamífero.

30 La modalidad 69 es el método de cualquiera de las modalidades 61-65, donde la administración comprende la administración al sistema respiratorio.

La modalidad 70 es el método de cualquiera de las modalidades 61-65 o 69, donde la composición se administra mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador.

La modalidad 71 es el método de cualquiera de las modalidades 61-70, donde la gravedad de un síntoma de dicha afección pulmonar se reduce tras la administración.

La modalidad 72 es el método de la modalidad 71, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 25 por ciento tras la administración.

La modalidad 73 es el método de la modalidad 71, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 50 por ciento tras la administración.

5 La modalidad 74 es el método de la modalidad 71, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 75 por ciento tras la administración.

La modalidad 75 es el método de cualquiera de las modalidades 71-74, donde la distensibilidad pulmonar de dicho mamífero disminuye tras dicha etapa de administración.

10 La modalidad 76 es el método de la modalidad 75, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración.

La modalidad 77 es el método de la modalidad 75, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración.

15 La modalidad 78 es el método de la modalidad 75, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración.

20 La modalidad 79 es el método de cualquiera de las modalidades 61-78, que comprende además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración.

La modalidad 80 es el método de la modalidad 79 en el que al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos tras la administración mejora en comparación con antes de la administración.

25 La modalidad 81 es el método de cualquiera de las modalidades 79-80, donde uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

30 La modalidad 82 es el método de cualquiera de las modalidades 61-81, donde el método comprende la identificación de dicho mamífero como poseedor de la condición pulmonar antes de dicha etapa de administración.

La modalidad 83 es el método de cualquiera de las modalidades 61-82, donde el método comprende identificar que dicho mamífero tiene neumonía antes de dicha etapa de administración.

La modalidad 84 es el método de cualquiera de las modalidades 61-83, donde las

células representativas de la *Prevotella* se depositan como número de acceso NRRL B-50329.

La modalidad 85 es el método de cualquiera de las modalidades 61-84, donde la composición comprende entre 1×10^3 y 1×10^{14} UFC de *Prevotella*.

5 La modalidad 86 es el método de cualquiera de las modalidades 61-84, donde la composición comprende entre 1×10^5 y 1×10^{12} UFC de *Prevotella*.

La modalidad 87 es el método de cualquiera de las modalidades 61-84, donde la composición comprende entre 1×10^8 y 1×10^{10} UFC de *Prevotella*.

La modalidad 88 es el método de cualquiera de las modalidades 61-87, donde la composición se administra una vez al día.

10 La modalidad 89 es el método de cualquiera de las modalidades 61-87, donde la composición se administra dos veces al día.

La modalidad 90 es el método de cualquiera de las modalidades 61-87, donde la composición se administra tres veces al día.

15 La modalidad 91 es el método de cualquiera de las modalidades 61-90, donde la composición se administra durante un período de al menos aproximadamente 4 semanas.

La modalidad 92 es el método de cualquiera de las modalidades 61-90, donde la composición se administra durante un período de al menos aproximadamente 8 semanas.

La modalidad 93 es el método de cualquiera de las modalidades 61-92, donde la *Prevotella* comprende *Prevotella histicola*.

20 La modalidad 94 es el método de cualquiera de las modalidades 61-93, donde la afección pulmonar se selecciona del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, enfermedad causada por una infección y combinaciones de las mismas.

25 La modalidad 95 es el método de la modalidad 94, donde la enfermedad causada por la infección se selecciona del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección parasitaria y combinaciones de las mismas.

30 La modalidad 96 es el método de la modalidad 95, donde la infección viral se selecciona del grupo que consiste en neumonía viral, bronquitis viral, gripe, infección por coronavirus, infección por adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus y combinaciones de las mismas.

La modalidad 97 es el método de la modalidad 95, donde la infección bacteriana se selecciona del grupo que consiste en infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydomphila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por *Mycobacterium*, infección por

Legionella y combinaciones de las mismas.

La modalidad 98 es el método de cualquiera de las modalidades 61-93, donde la afección pulmonar comprende una neumonía.

5 La modalidad 99 es un método para tratar una afección pulmonar en un mamífero, donde dicho método comprende administrar al mamífero una composición que comprende *Prevotella melaninogenica* viva o inactivada.

La modalidad 100 es el método de la modalidad 99, donde la composición comprende *Prevotella melaninogenica* viva.

10 La modalidad 101 es el método de la modalidad 99, donde la composición comprende *Prevotella melaninogenica* inactivada y *Prevotella melaninogenica* no viva.

La modalidad 102 es el método de cualquiera de las modalidades 99-101, donde el mamífero es un humano.

La modalidad 103 es el método de cualquiera de las modalidades 99-101, donde el mamífero es un roedor.

15 La modalidad 104 es el método de cualquiera de las modalidades 99-103, donde la administración comprende administración oral.

La modalidad 105 es el método de cualquiera de las modalidades 99-104, donde la composición es una píldora, un comprimido o una cápsula.

20 La modalidad 106 es el método de cualquiera de las modalidades 99-105, donde la composición es una píldora, tableta o cápsula configurada para administrar la *Prevotella melaninogenica* a los intestinos del mamífero.

La modalidad 107 es el método de cualquiera de las modalidades 99-103, donde la administración comprende la administración al sistema respiratorio.

25 La modalidad 108 es el método de cualquiera de las modalidades 99-103 o 107, donde la composición se administra mediante un aerosol nasal, un inhalador o un nebulizador.

La modalidad 109 es el método de cualquiera de las modalidades 99-108, donde la gravedad de un síntoma de dicha afección pulmonar se reduce tras la administración.

La modalidad 110 es el método de la modalidad 109, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 25 por ciento tras la administración.

30 La modalidad 111 es el método de la modalidad 109, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 50 por ciento tras la administración.

La modalidad 112 es el método de la modalidad 109, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 75 por ciento tras la administración.

La modalidad 113 es el método de cualquiera de las modalidades 109-112, donde la

distensibilidad pulmonar de dicho mamífero disminuye tras dicha etapa de administración.

La modalidad 114 es el método de la modalidad 113, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 5% en comparación con antes de la administración.

5 La modalidad 115 es el método de la modalidad 113, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración.

10 La modalidad 116 es el método de la modalidad 113, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración.

La modalidad 117 es el método de cualquiera de las modalidades 99-116, que comprende además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración.

15 La modalidad 118 es el método de la modalidad 117, donde al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos tras la administración mejora en comparación con antes de la administración.

20 La modalidad 119 es el método de cualquiera de las modalidades 117-118, donde uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

La modalidad 120 es el método de cualquiera de las modalidades 99-119, donde el método comprende la identificación de dicho mamífero como poseedor de la condición pulmonar antes de dicha etapa de administración.

25 La modalidad 121 es el método de cualquiera de las modalidades 99-120, donde el método comprende identificar que dicho mamífero tiene neumonía antes de dicha etapa de administración.

La modalidad 122 es el método de cualquiera de las modalidades 99-121, donde el método comprende identificar que dicho mamífero tiene EPOC antes de dicha etapa de administración.

30 La modalidad 123 es el método de cualquiera de las modalidades 99-122, donde la composición comprende entre 1×10^3 y 1×10^{14} UFC de *Prevotella melaninogenica*.

La modalidad 124 es el método de cualquiera de las modalidades 99-122, donde la composición comprende entre 1×10^5 y 1×10^{12} UFC de *Prevotella melaninogenica*.

La modalidad 125 es el método de cualquiera de las modalidades 99-122, donde la

composición comprende entre 1×10^8 y 1×10^{10} UFC de *Prevotella melaninogenica*.

La modalidad 126 es el método de cualquiera de las modalidades 99-125, donde la composición se administra una vez al día.

5 La modalidad 127 es el método de cualquiera de las modalidades 99-125, donde la composición se administra dos veces al día.

La modalidad 128 es el método de cualquiera de las modalidades 99-125, donde la composición se administra tres veces al día.

La modalidad 129 es el método de cualquiera de las modalidades 99-128, donde la composición se administra durante un periodo de al menos aproximadamente 4 semanas.

10 La modalidad 130 es el método de cualquiera de las modalidades 99-128, donde la composición se administra durante un periodo de al menos aproximadamente 6 semanas.

La modalidad 131 es el método de cualquiera de las modalidades 99-128, donde la composición se administra durante un período de al menos aproximadamente 8 semanas.

15 La modalidad 132 es el método de cualquiera de las modalidades 99-131, donde la afección pulmonar se selecciona del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, enfermedad causada por una infección y combinaciones de las mismas.

20 La modalidad 133 es el método de la modalidad 132, donde la enfermedad causada por la infección se selecciona del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección parasitaria y combinaciones de las mismas.

La modalidad 134 es el método de la modalidad 133, donde la infección viral se selecciona del grupo que consiste en neumonía viral, bronquitis viral, gripe, infección por coronavirus, infección por adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus y combinaciones de las mismas.

25 La modalidad 135 es el método de la modalidad 133, donde la infección bacteriana se selecciona del grupo que consiste en infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydophila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por *Mycobacterium*, infección por *Legionella* y combinaciones de las mismas.

30 La modalidad 136 es el método de cualquiera de las modalidades 99-131, donde la afección pulmonar comprende una neumonía.

La modalidad 137 es un método para tratar una afección pulmonar en un mamífero, donde dicho método comprende administrar una composición que comprende vesículas de una especie de *Prevotella*.

La modalidad 138 es el método de la modalidad 137, donde el mamífero es un humano.

La modalidad 139 es el método de la modalidad 137, donde el mamífero es un roedor.

La modalidad 140 es el método de la modalidad 137, donde la administración
5 comprende administración oral.

La modalidad 141 es el método de cualquiera de las modalidades 137-140, donde la composición es una píldora, un comprimido o una cápsula.

La modalidad 142 es el método de cualquiera de las modalidades 137-141, donde la composición es una píldora, un comprimido o una cápsula configurada para suministrar las
10 vesículas de la especie *Prevotella* a los intestinos del mamífero.

La modalidad 143 es el método de cualquiera de las modalidades 137-139, donde la administración comprende la administración al sistema respiratorio.

La modalidad 144 es el método de cualquiera de las modalidades 137-139 o 143, donde la composición se administra mediante un aerosol nasal, un inhalador o un
15 nebulizador.

La modalidad 145 es el método de cualquiera de las modalidades 137-144, donde la gravedad de un síntoma de dicha afección pulmonar se reduce tras la administración.

La modalidad 146 es el método de la modalidad 145, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de un 25 por ciento tras la administración.

La modalidad 147 es el método de la modalidad 145, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de aproximadamente un 50 por ciento tras la
20 administración.

La modalidad 148 es el método de la modalidad 145, donde la gravedad del síntoma de dicha afección pulmonar se reduce en más de aproximadamente un 75 por ciento tras la
25 administración.

La modalidad 149 es el método de cualquiera de las modalidades 145-148, donde la distensibilidad pulmonar de dicho mamífero disminuye tras dicha etapa de administración.

La modalidad 150 es el método de la modalidad 149, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 5% en
30 comparación con antes de la administración.

La modalidad 151 es el método de la modalidad 149, donde la distensibilidad pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 10% en comparación con antes de la administración.

La modalidad 152 es el método de la modalidad 149, donde la distensibilidad

pulmonar después de la administración disminuye en al menos aproximadamente un 15% en comparación con antes de la administración.

5 La modalidad 153 es el método de cualquiera de las modalidades 137-152, que comprende además la medición de uno o más parámetros de la función pulmonar antes de la administración, y la medición del mismo uno o más parámetros de la función pulmonar después de la administración.

La modalidad 154 es el método de la modalidad 153 en el que al menos uno de los uno o más parámetros de la función pulmonar medidos tras la administración mejora en comparación con antes de la administración.

10 La modalidad 155 es el método de cualquiera de las modalidades 153-154, donde uno o más parámetros de la función pulmonar comprenden conformidad pulmonar, volumen pulmonar, resistencia de las vías respiratorias, elastancia o una combinación de los mismos.

15 La modalidad 156 es el método de cualquiera de las modalidades 137-155, donde el método comprende la identificación de dicho mamífero como poseedor de la condición pulmonar antes de dicha etapa de administración.

La modalidad 157 es el método de cualquiera de las modalidades 137-156, donde el método comprende identificar que dicho mamífero tiene neumonía antes de dicha etapa de administración.

20 La modalidad 158 es el método de cualquiera de las modalidades 137-157, donde células representativas de la especie *Prevotella* se depositan como número de acceso NRRL B-50329.

La modalidad 159 es el método de cualquiera de las modalidades 137-158, donde la composición se administra una vez al día.

25 La modalidad 160 es el método de cualquiera de las modalidades 137-158, donde la composición se administra dos veces al día.

La modalidad 161 es el método de cualquiera de las modalidades 137-158, donde la composición se administra tres veces al día.

La modalidad 162 es el método de cualquiera de las modalidades 137-161, donde la composición se administra durante un periodo de al menos aproximadamente 4 semanas.

30 La modalidad 163 es el método de cualquiera de las modalidades 137-161, donde la composición se administra durante un periodo de al menos aproximadamente 8 semanas.

La modalidad 164 es el método de cualquiera de las modalidades 137-163, donde la especie *Prevotella* comprende *Prevotella histicola*.

La modalidad 165 es el método de cualquiera de las modalidades 137-164, donde la

especie *Prevotella* comprende *Prevotella melaninogenica*.

La modalidad 166 es el método de cualquiera de las modalidades 137-165, donde la especie *Prevotella* comprende *Prevotella histicola* y *Prevotella melaninogenica*.

5 La modalidad 167 es el método de cualquiera de las modalidades 137-165, donde la afección pulmonar se selecciona del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, enfermedad causada por una infección y combinaciones de las mismas.

10 La modalidad 168 es el método de la modalidad 166, donde la enfermedad causada por la infección se selecciona del grupo que consiste en una infección viral, una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección parasitaria y combinaciones de las mismas.

La modalidad 169 es el método de la modalidad 167, donde la infección viral se selecciona del grupo que consiste en neumonía viral, bronquitis viral, gripe, infección por coronavirus, infección por adenovirus, infección por virus sincitial, infección por rinovirus y combinaciones de las mismas.

15 La modalidad 170 es el método de la modalidad 167, donde la infección bacteriana se selecciona del grupo que consiste en infección por *Streptococcus*, infección por *Staphylococcus*, infección por *Chlamydophila*, infección por *Mycoplasma*, infección por *Haemophilus*, infección por *Corynebacterium*, infección por *Mycobacterium*, infección por *Legionella* y combinaciones de las mismas.

20 La modalidad 171 es el método de cualquiera de las modalidades 137-165, donde la afección pulmonar comprende una neumonía.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

25 Un ser humano al que se le ha diagnosticado EPOC o que presenta uno o más síntomas de la misma (por ejemplo, enfisema) es tratado con una composición que contiene *P. histicola* viva. La composición que contiene *P. histicola* viva se administra por vía oral al humano en una dosis de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} UFC una vez al día durante 8 semanas. El ser humano es monitorizado para confirmar la reducción de uno
30 o más síntomas de EPOC.

Ejemplo 2

Un ser humano al que se le ha diagnosticado EPOC o que presenta uno o más síntomas de la misma (por ejemplo, enfisema) es tratado con una composición que contiene

P. histicola viva. La composición que contiene *P. histicola* viva se administra por vía nasal al humano en una dosis de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} UFC una vez al día durante 8 semanas. El ser humano es monitorizado para confirmar la reducción de uno o más síntomas de la EPOC.

5

Ejemplo 3

Se generó un modelo de enfisema inducido por el humo del cigarro (HC) utilizando ratones DQ8. La exposición al humo del cigarro durante 4-5 semanas modificó la inmunidad pulmonar al aumentar las citocinas proinflamatorias, como la IL-17, e indujo un enfisema leve. Se investigó el efecto de la IL-17 en el enfisema inducido por el HC utilizando ratones DQ8.IL-17^{-/-}. La exposición al HC durante 4 semanas provocó un enfisema grave en estos ratones, lo que indica un papel de la IL-17 en la protección. Los pulmones con EPOC pueden tener una microbiota alterada, en algunos casos con delección selectiva de especies de *Prevotella*. Estos resultados indican que la microbiota de las vías respiratorias puede estar implicada en la dirección de la diferenciación de las citoquinas inflamatorias, que a su vez promueven la afluencia de células inflamatorias y la EPOC.

15

Ejemplo 4

Para investigar el papel de las citocinas en la patología pulmonar, se expuso a los ratones DQ8 a HC o aire durante 5 semanas, y se determinó la respuesta inmunitaria en los pulmones mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (rtPCR) (Figura 1). La Figura 1 es una gráfica de barras de la expresión de ARNm en los pulmones de los ratones expuestos al HC (barras rojas) o al aire (barras azules). Los ratones expuestos al HC mostraron un aumento de CXCR3 y CXCL10, similar al conocido en los fumadores (ver, por ejemplo, Saetta, et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 165:1404- 1409 (2002)) con una expresión reducida de los genes asociados a la fibrosis, Coll a1, fibronectina y TGFβ.

20

25

Ejemplo 5

El papel de la IL-17 en el enfisema se investigó generando ratones AEo.DQ8 deficientes en IL-17, (DQ8.IL-17^{-/-}). Los ratones DQ8 y DQ8.IL-17^{-/-} fueron expuestos a HC durante 4 semanas. Los ratones DQ8 expuestos al aire (NS) se utilizaron como controles (Figura 2A, 2B y 2C). La función pulmonar de los ratones se midió mediante la determinación de la distensibilidad pulmonar (CST), realizando una exploración de la mecánica pulmonar en animales vivos. Se estudió una curva presión-volumen (PV) en tres

30

grupos de ratones, y los datos se recopilaron como se representa (ratones DQ8 NS (Figura 2A), ratones DQ8 HC (Figura 2B), N=7 cada uno y ratones DQ8.IL-17^{-/-}, HC (Figura 2C), N=4). Estos resultados demuestran que los ratones humanizados expuestos a HC desarrollaron enfisema, una característica clave de la EPOC. Estos resultados también demuestran un papel protector de la IL-17 en la EPOC, ya que en ausencia de IL-17 se produjo un aumento de la distensibilidad pulmonar. Como se muestra en **la Figura 3**, se observó un aumento estadísticamente significativo de la distensibilidad pulmonar en los ratones DQ8 expuestos al HC, así como en los ratones DQ8.IL-17^{-/-}, en relación con los ratones DQ8 "no fumadores" (NS) de control.

Sin ceñirse a ninguna teoría en particular, se cree que el papel de la IL-17 en la EPOC podría ser: 1) un mecanismo compensatorio o 2) que la disbiosis provoque un aumento de la IL-17.

El modelo DQ8.IL-17^{-/-} se diferenciaba de otros modelos en que la EPOC se desarrollaba después de un corto período de exposición al HC (por ejemplo, después de aproximadamente 4 semanas), en comparación con las 16-24 semanas reportadas para otros modelos (ver, por ejemplo, Wright, J. L., y A. Churg. *Expert. Rev. Respir. Med.* 4: 723-734. (2010)). Además, el modelo DQ8.IL-17^{-/-} mostraba un brazo efector de la respuesta inmunitaria restringido por las moléculas DQ8 humanas e imitaba a los humanos en la respuesta inmunitaria a varios antígenos y patologías autoinmunes.

Ejemplo 6

Como se muestra en el Ejemplo 5, se desarrolló enfisema en ratones DQ8.IL-17^{-/-} fumadores, un modelo en el que una exposición a HC durante 3-4 semanas condujo a una inflamación pulmonar crónica con destrucción alveolar y enfisema. El tratamiento oral con *P. histicola* se realiza para confirmar la modulación del enfisema en los ratones DQ8.IL-17^{-/-} expuestos a HC mediante la generación de eubiosis y la reducción de la inflamación pulmonar. Brevemente, se realiza el tratamiento del enfisema inducido por HC en ratones DQ8.IL-17^{-/-} con *P. histicola* o *P. melaninogenica*, así como la determinación de los cambios en la función pulmonar. Los ratones DQ8.IL-17^{-/-} expuestos al aire en lugar de a la CD se utilizan como control. La mejora de la función pulmonar en los ratones tratados se mide mediante distensibilidad pulmonar estática.

Ejemplo 7

Los pacientes con EPOC presentan una baja abundancia de *Prevotella*, uno de los

géneros más abundantes en la mucosa oral, pulmonar e intestinal. Se determina si el enfisema inducido por HC puede ser tratado por un comensal humano dominante en la mucosa oral.

Los ratones DQ8.IL-17^{-/-} se exponen a HC diariamente durante 2 semanas, y la cohorte se asigna aleatoriamente a 4 grupos:

- 5 Grupo 1 - tratamiento con medios (Control),
- Grupo 2 - control simulado,
- Grupo 3 - tratamiento oral con *P. histicola*, y
- Grupo 4 - tratamiento oral con *P. melaninogenica*.

10 Como se muestra en el ejemplo 5, las figuras 2A-2C y la figura 3, a las 4 semanas de la exposición al HC, los ratones mostraron una pérdida significativa de la función pulmonar. A las 2 semanas de exposición, parecían comenzar los cambios estructurales.

15 Esta duración de la exposición se elige porque 4 semanas es el tiempo necesario para inducir de forma reproducible y eficaz las anomalías fisiológicas del enfisema en los ratones DQ8.IL-17^{-/-}, como se muestra en el Ejemplo 5. La mecánica de la función pulmonar es un evento terminal, por lo tanto, después de la exposición al HC durante 2 semanas, los grupos experimentales se tratan por vía oral durante 2 semanas en días alternos con bacterias vivas (10⁹ UFC/100 µL) en cultivo bacteriano. Los ratones se siguen exponiendo al HC con una exposición total de 4 semanas. Los ratones de control emparejados por edad son fumados de forma simulada: se colocan en jaulas adyacentes a la cámara de humo del cigarro. Se

20 incluyen aproximadamente 7-10 ratones en cada grupo para la función pulmonar.

 La exposición crónica al HC se realiza en una cámara de humo (Teague enterprises, CA) que expone a los ratones a concentraciones reguladas de inhalación de HC generadas por los cigarros de investigación 3R4F Kentucky (2 cigarros cada 10 minutos durante 3h/día durante 5 días/semana, como se describe en otra parte (ver, por ejemplo, Kroening, et al.,

25 *Journal of Immunology*, 181:1536-1547 (2008)). En este sistema, los ratones están expuestos a una mezcla de humo de cigarro de corriente principal y de corriente lateral, y esto permite una exposición suficiente que da lugar a la generación de niveles de nicotina en la sangre murina análogos a los niveles alcanzados en los fumadores humanos intensos (rango de aproximadamente 45-181 ng/mL) (ver, por ejemplo, Kroening, et al., *Journal of Immunology*,

30 181:1536- 1547 (2008); and Jarvik, et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 66:553-558 (2000)).

Los ratones se controlan diariamente y se pesan en días alternativos para determinar su estado.

El análisis de la función pulmonar se realiza al finalizar el experimento. La función pulmonar de los ratones expuestos al HC y de los ratones de control se realiza mediante el

sistema flexiVent®. Esto permite determinar la distentabilidad pulmonar, el volumen y la resistencia de las vías respiratorias. Las mediciones de referencia de la resistencia, la distensibilidad y la elastancia del sistema respiratorio se realizan durante una contención de la respiración de 2-s con una oscilación sinusoidal de 2.5-Hz utilizando el modelo de compartimento único (ver, por ejemplo, Ewart, S., et al. *J Appl Physiol* (1985) 79: 560-566.). Se determina el efecto de la exposición de 4 semanas al humo del cigarro utilizando los 4 grupos de ratones. Al final del periodo de exposición, se realiza la distentabilidad pulmonar estática, la resistencia de las vías respiratorias y de los tejidos bajo ventilación espontánea.

Las mediciones se realizan para confirmar que *P. histicola* y *P. melaninogenica* suprimen el enfisema.

Ejemplo 8

El HC provoca una disbiosis del microbioma pulmonar, que puede modificar la respuesta inmunitaria local provocando la acumulación de citoquinas proinflamatorias. Los cambios estructurales y moleculares en los pulmones expuestos al HC se analizan llevando a cabo una serie de estrategias complementarias.

Para determinar los cambios morfológicos de las vías respiratorias y del pulmón distal, los ratones se tratan como se indica en el Ejemplo 7. Al finalizar el experimento en la semana 4, se sacrifican los ratones. Los pulmones se inflan con 0.5 mL de formalina neutra al 10% y se fijan durante la noche. El tejido pulmonar fijado se incrusta en parafina, se secciona y se tiñe con hematoxilina y eosina (tinción H&E) para determinar la presencia de características morfológicas de enfisema (por ejemplo, expansión de las paredes interalveolares y determinación de la intercepción lineal media (ver, por ejemplo, Hasleton, P. S. *Pathol Eur* 11: 211-218, (1976))). Se evalúan de cuatro a cinco vasos por ratón. Brevemente, para cada vaso, se evalúan dos características del infiltrado perivascular. La puntuación del perímetro representa el porcentaje del perímetro del vaso rodeado de células. Una puntuación de 1 representa un 5-20% del perímetro del vaso rodeado de células; una puntuación de 2 representa un 25-45% del vaso rodeado de células; una puntuación de 3 indica un 50-75%; y una puntuación de 4 representa un 75-100% del vaso rodeado de células.

En otro conjunto de ratones, un pulmón se congela a -80 °C y se utiliza posteriormente para determinar las citocinas y quimiocinas mediante rtPCR.

Se recoge un pulmón de cada ratón del párrafo anterior y del ejemplo 7 en el momento del sacrificio y se realiza la secuenciación 16S (ver, por ejemplo, Chen, J., et al. *Genome Med* 8: 43 (2016)). Las muestras se congelan y la secuenciación del ARNr 16S se realiza

conjuntamente para todas las muestras. Se generan perfiles de filotipo de las poblaciones del microbioma mediante la secuenciación profunda del ADNr de la región hipervariable V4 del gen del ARN ribosómico 16S (ARNr) (ver, por ejemplo, Evaluation of 16S rDNA-Based Community Profiling for Human Microbiome Research. *PloS one* 7: e39315 (2012).). El ADN microbiano se extrae utilizando el kit MoBio PowerSoil con un paso de batido de cuentas. Se realiza una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando 50 ng de ADNc y 0.3 μ M de cebadores con código de barras con Kapa HiFi Hotstart Ready Mix. Los datos se analizan como en el Ejemplo 7 para confirmar cómo el tratamiento cambia la composición microbiana.

Ejemplo 9

Plan de interpretación de datos

Las diferencias en la distensibilidad de los pulmones se determinan mediante un análisis de ANOVA con 7 ratones en cada grupo.

Análisis del microbioma: Las muestras se secuencian en un carril de MiSeq en el Mayo Genomics Facility utilizando el MiSeq Reagent Kit v2 (500-cycles) (Illumina Inc.), generando 20M 2x250 lecturas. Los archivos de secuencias preprocesadas se procesan con IM- TORNADO (Jeraldo, P., et al. *PloS one* 9: e114804, 2014.) eliminando las secuencias de baja calidad e incompletas. A continuación, las secuencias se introducen en el Proyecto de Base de Datos Ribosómica para obtener las llamadas de taxones que se utilizan en el posterior análisis de correlación. El proceso bioinformático permite la asignación de unidades taxonómicas operativas (OTU) y, a continuación, el análisis de la comunidad microbiana, que incluye la alineación de secuencias, los árboles filogenéticos, el análisis filogenético y de diversidad basado en taxones y el análisis de redes, así como el análisis Unifrac para la agrupación en OTU, la generación de curvas de rarefacción y el cálculo de los valores de estimación de la riqueza de especies ACE (estimador de cobertura basado en la abundancia) y Chao1 (estimador Chao 1). El análisis de coordenadas se basa en las distancias de Bray-Curtis a nivel de filo, lo que permite comprobar la agrupación de las muestras. Las matrices de distancia de Bray-Curtis utilizadas para estos análisis se calculan a varios niveles filogenéticos, incluyendo el nivel de secuencia de ADN, el agrupamiento a nivel de filo, el nivel de división, el nivel de género o el agrupamiento selectivo a una combinación de niveles de género y especie. El índice de disimilitud de Bray-Curtis se utiliza para calcular la matriz de distancia para el análisis de conglomerados mediante el paquete PHYLIP. El

análisis de distancia de Bray-Curtis, las coordenadas y los análisis estadísticos utilizados para agrupar los perfiles microbianos se realizan como se describe (ver, por ejemplo, Chen, J., et al. *Genome Med* 8: 43, 2016.). Los perfiles predictivos y otros análisis estadísticos se realizan en R-3.0.2 (R Development Core Teams) como se describe (ver, por ejemplo, Chen, J., et al.

5 *Genome Med* 8: 43, 2016.).

Potencia estadística: se utilizan 15 ratones/cepa para definir los cambios en el perfil microbiano (ver, por ejemplo, Chen, J., et al. *Genome Med* 8: 43, 2016.). El análisis de la potencia estadística de la agrupación se evalúa mediante el método MANOVA de dos grupos (ver, por ejemplo, Cohen, J. 1988. Chapter 10. In *Statistical Power Analysis for the*
10 *Behavioral Sciences*, 2nd ed. Lawrence Erlbaum Assoc Inc. 567.). 15 ratones por cohorte proporcionan resultados significativos relacionados con la agrupación de las muestras y permiten probar la hipótesis de que existe un cambio característico en el perfil microbiano de los ratones tratados y no tratados. Las respuestas de las citoquinas se analizan mediante la prueba t de estudiantes no paramétrica. Los valores p de dos caras <0.05 se consideran
15 estadísticamente significativos.

Ejemplo 10

Se complementan los comensales en la cavidad oral y se miden los cambios en el microbioma pulmonar de los ratones tratados y no tratados. La suplementación oral de
20 comensales conduce a la presencia de los comensales en el intestino. Si no se observan diferencias en el tratamiento inducido por el HC, los ratones se tratan con el antibiótico Vancomicina (que sólo tiene impacto en el intestino) para confirmar el impacto de la microbiota intestinal en el enfisema inducido por el HC.

Para las pruebas del microbioma intestinal, se recogen muestras de heces antes de
25 iniciar el tratamiento y después de suspenderlo. Incluso cuando los suplementos orales sólo cambian la microbiota intestinal, pueden confirmarse las diferencias en la respuesta inmunitaria pulmonar tras el tratamiento, dado el eje intestino-pulmón que existe.

Ejemplo 11

30 La aplicación nasal de microbios para obtener un efecto específico en los pulmones se confirma como se describe para la aplicación oral de microbios.

Ejemplo 12

Los ratones DQ8 Naïve fueron expuestos al humo del cigarro (HC) o no (N) durante 4

semanas. Dos grupos de ratones expuestos al HC durante 2 semanas fueron tratados con *Prevotella histicola* (PH) o *Prevotella melaninogenica* (PM) por vía intranasal en días alternos. Los datos muestran una pérdida significativa de la función pulmonar con un aumento de la distensibilidad indicativo de enfisema o EPOC para los ratones no tratados con PH o PM (Figuras 5A y 5D). N vs HC, $P < .008$. Tras el tratamiento con *Prevotella histicola* o *Prevotella melaninogenica*, los ratones mostraron una distensibilidad similar a la de los ratones DQ8 Naïve expuestos sólo al aire (N) (Figuras 5B-D). HC/PH vs HC, $P < 0.004$, HC/PM vs HC, $P < 0.006$. El análisis se realizó utilizando el software Prism y la prueba T no par.

La función pulmonar se midió como distensibilidad pulmonar estática (Cst) utilizando un sistema Flexivent. Se determinó la evaluación cuantitativa de distensibilidad pulmonar estática, volumen la resistencia de las vías respiratorias. Se midieron la distensibilidad pulmonar estática y la resistencia de las vías respiratorias y de los tejidos bajo ventilación espontánea. Las mediciones de referencia de la resistencia, la distensibilidad y la elastancia del sistema respiratorio se realizaron durante una contención de la respiración de 2-s con una oscilación sinusoidal de 2,5-Hz utilizando el modelo de compartimento único. A las 4 semanas de la exposición al HC, los ratones presentaron una pérdida significativa de la función pulmonar. La mecánica de la función pulmonar es un evento terminal, por lo que los ratones después de la exposición al HC durante 2 semanas fueron tratados por vía intranasal durante 2 semanas alternas con bacterias vivas (10^9 UFC/100 μ L) *Prevotella histicola* o *Prevotella melaninogenica* suspendidas en 100 microlitros de cultivo bacteriano TSB (anaeróbico).

Exposición al humo de los cigarrillos: La exposición crónica al HC se llevó a cabo en una cámara de humo (Teague enterprises, CA,) que permite la exposición de los ratones a concentraciones reguladas de inhalación de HC generadas por los cigarrillos de investigación 3R4F Kentucky (2 cigarrillos cada 10 minutos durante 3h/día durante 5 días/semana. En este sistema, los ratones están expuestos a una mezcla de humo de cigarro de corriente principal y de corriente lateral y permite una exposición suficiente que da lugar a la generación de niveles de nicotina en la sangre murina análogos a los niveles alcanzados en los fumadores humanos intensos (rango de 45-181 ng/mL).

Ejemplo 13

Los ratones DQ8.IL-17^{-/-} Naïve fueron expuestos al humo del cigarro (HC) o no (NS) durante 4 semanas. Dos grupos de ratones expuestos al HC durante 2 semanas fueron tratados

con *Prevotella histicola* (PH) o *Prevotella melaninogenica* (PM) por vía intranasal en días alternos. Los datos de la Figura 6 muestran que los ratones DQ8.IL-17^{-/-} naïve sin exposición a HC tienen una pérdida significativa de la función pulmonar en comparación con los ratones DQ8 naïve (mostrados en la Fig. 5A), P<0.048. Tras la exposición al HC, se observó una pérdida de la función pulmonar en los ratones DQ8.IL-17^{-/-}, aunque no fue significativa en comparación con los ratones naïve, lo que sugiere que la IL-17 es esencial para mantener la función pulmonar. Los ratones DQ8.IL-17^{-/-} expuestos a HC fueron tratados con *Prevotella histicola* o *Prevotella melaninogenica* como en el Ejemplo 12. Después del tratamiento, los ratones mostraron una distentabilidad similar a la de los ratones DQ8.IL-17^{-/-} Naïve expuestos sólo al aire (N). HC/PH vs HC, P<0.03, HC/PM vs HC, P<0.02. Los ratones DQ8.IL-17^{-/-} tratados mostraron una función similar a la de los ratones DQ8 tratados, lo que sugiere que las especies de *Prevotella* podrían restaurar la función que se perdió debido a la deficiencia de IL-17.

Ejemplo 14

Se utilizaron OMV derivadas de *Prevotella histicola* y *Prevotella melaninogenica* para determinar si estas vesículas pueden mejorar la función pulmonar de los ratones con EPOC. Las OMVs derivadas de *P. melaninogenica* mostraron una mejora significativa, HC vs HC/PM OMV, P<0.02 mientras que los tratados con OMVs derivadas de *P. histicola* mostraron respuestas variables con algunos ratones mostrando una función pulmonar restaurada mientras que otros no (Figura 7). Estos datos sugieren que ciertas proteínas de las OMV de *Prevotella* podrían ser capaces de restaurar la función pulmonar de la EPOC.

Las OMV se purificaron a partir de cultivos de caldo in vitro de *P. histicola* y *P. melaninogenica* mediante el método de ultracentrifugación (Yang D., et al. *Immunity*. 2019;50(3):692- 706.e7. doi:10.1016/j.immuni.2019.02.001). Brevemente, las bacterias cultivadas en condiciones anaeróbicas utilizando caldo de soja Tryptic (TSB) se sometieron a centrifugación durante 15 min a 10,000 g (a 4 °C) para recoger el sobrenadante libre de bacterias. El sobrenadante recogido se llevó a la ultracentrifugación a 400,000 g durante 1.5 horas (a 4 °C). Después de la ultracentrifugación, se eliminó el sobrenadante para obtener los OMV peletizados. La preforma de OMVs se suspendió en tampón fosfato salino (PBS). Una parte de la suspensión de OMVs preparada se colocó en una placa de Agar TSB-Sangre para comprobar la contaminación bacteriana.

Las OMV purificadas se caracterizaron bioquímicamente mediante la cuantificación de la proteína total (Pierce BCA Protein Assay Kit - Thermo Fisher Scientific) para dilucidar

la pureza de las OMV y el LPS total. Los ratones DQ8 expuestos a HC fueron tratados con 100 mg (lipopolisacárido (LPS) de OMV)/ratón por vía intranasal.

Ejemplo 15

- 5 Los ratones DQ8 Naïve fueron expuestos al humo del cigarro durante 2 semanas. Los ratones se agruparon en 2 grupos, uno de los cuales fue tratado con la aplicación intranasal de *P. histicola* (PH) durante 2 semanas y expuesto al humo del cigarro, mientras que el otro grupo fue un control y sólo fue expuesto a HC. * El símbolo de la derecha indica el valor de P para HC frente a HC/PH. N=6 cada grupo.
- 10 Los transcritos de ARNm se midieron mediante rtPCR utilizando un kit disponible en el mercado (Figuras 8A-E). Los ratones tratados con *P. histicola* mostraron una menor expresión de citoquinas proinflamatorias. Además, la CTLA-4 costimuladora se redujo en las células T. Se sabe que la IL-13 induce la activación y proliferación de las células B y la producción de anticuerpos. La IL-23 es una citocina TH17 y se sabe que participa en el
- 15 mantenimiento de la respuesta TH17. Tanto la IL-1b como la IL-23 están aumentadas en los pulmones de los pacientes con EPOC y causan inflamación. El TNF-a es una citocina pleiotrópica que participa en la citotoxicidad, la angiogénesis, la inhibición del crecimiento, la inflamación y la inmunomodulación. Los inhibidores del TNF-a han demostrado su eficacia en la EPOC grave, lo que ha permitido reducir las hospitalizaciones. Estos datos
- 20 sugieren que los ratones con EPOC que reciben tratamiento con *P. histicola* tienen menos inflamación que los no tratados.

Ejemplo 16

- 25 Los ratones DQ8 naïve expuestos a HC y tratados con *P. histicola* mostraron niveles de algunas transcripciones de citoquinas que alcanzaron los niveles de los ratones naïve. La IL-1B no mostró ninguna diferencia entre los ratones naïve y los tratados con *P. histicola* (Figura 9A). Del mismo modo, los ratones tratados mostraron un restablecimiento de los niveles de expresión de CTLA similar al de los ratones naïve (Figura 9B).

- 30 La expresión de todas las citoquinas analizadas no mostró diferencias entre los ratones tratados con *P. histicola* y los ratones Naïve, lo que sugiere que el tratamiento con *P. histicola* normaliza el estado inmunitario en el pulmón de los ratones expuestos al HC.

Ejemplo 17

El tratamiento con *P. histicola* redujo los niveles de citoquinas proinflamatorias en los

ratones DQ8 Naïve expuestos al HC en comparación con los ratones DQ8 Naïve al HC (Figuras 10A y 10B). Sin embargo, las diferencias no fueron significativas, lo que sugiere que reduce la inflamación sin causar una supresión inmunitaria. Por lo tanto, dicho tratamiento no da lugar a la incapacidad de luchar contra las infecciones.

5

Ejemplo 18

Los ratones DQ8 fueron expuestos a HC durante 2 semanas e inmunizados con colágeno tipo II (CII), N=4, durante 4 semanas. Dos ratones fueron tratados con *Porphyromonas gingivalis* intranasal durante 2 semanas en días alternos mientras que 2 ratones no recibieron ningún tratamiento. Se analizó la distensibilidad pulmonar después de 4 semanas. No se observó ninguna diferencia significativa (Figura 11).

10

Ejemplo 19

Se repite el experimento del Ejemplo 7, utilizando un grupo adicional: Grupo 5 - tratado con *Porphyromonas gingivalis*. Se realizan mediciones de la función pulmonar para confirmar que *P. histicola* y *P. melaninogenica* suprimen el enfisema, mientras que *Porphyromonas gingivalis* no tiene ningún efecto.

15

Ejemplo 20

Un ser humano al que se le ha diagnosticado neumonía o que presenta uno o más síntomas de la misma (por ejemplo, enfisema) es tratado con una composición que contiene *P. histicola* viva. La composición que contiene *P. histicola* viva se administra por vía oral al humano en una dosis de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} UFC una vez al día durante 8 semanas. El ser humano es monitorizado para confirmar la reducción de uno o más síntomas de neumonía.

20

25

Ejemplo 21

Un ser humano al que se le ha diagnosticado neumonía o que presenta uno o más síntomas de la misma (por ejemplo, enfisema) es tratado con una composición que contiene *P. histicola* viva. La composición que contiene *P. histicola* viva se administra por vía nasal al humano en una dosis de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{14} UFC una vez al día durante 8 semanas. El ser humano es monitorizado para confirmar la reducción de uno o más síntomas de neumonía.

30

OTRAS MODALIDADES

Debe entenderse que, aunque la invención se ha descrito junto con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos,

5 ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

10

15

20

25

30