

DOMENIUL TEHNIC

[0001] Această invenție se referă la compozițiile care conțin tulpini bacteriene izolate din tractul digestiv al mamiferelor și utilizarea unor astfel de compoziții în tratamentul bolilor.

BAZELE INVENȚIEI

[0002] Se crede că intestinul uman este steril *in utero*, dar este expus la o mare varietate de microbi materni și de mediu imediat după naștere. Apoi, apare o perioadă dinamică de colonizare și succesiune microbiană, care este influențată de factori cum ar fi modul de livrare, mediul, dieta și genotipul gazdei, toate acestea având impact asupra compoziției microbiotei intestinale, în special în timpul vieții timpurii. Ulterior, microbiota se stabilizează și devine adultă [1]. Microbiota intestinală umană conține mai mult de 500–1000 de filotipuri diferite aparținând în principal la două diviziuni bacteriene majore, Bacteroidetes și Firmicutes [2]. Relațiile simbiotice de succes care decurg din colonizarea bacteriană a intestinului uman au dus la o mare varietate de funcții metabolice, structurale, de protecție și alte beneficii. Activitățile metabolice îmbunătățite ale intestinului colonizat asigură că alte componente dietetice indigerabile sunt degradate, cu eliberarea de produse secundare care asigură o sursă importantă de nutrimente pentru gazdă. În mod similar, importanța imunologică a microbiotei intestinale este bine recunoscută și este exemplificată în cazul animalelor fără germeni care au un sistem imunitar afectat care este reconstituit funcțional după introducerea bacteriilor comensale [3–5].

[0003] Schimbările dramatice ale compoziției microbiotei au fost documentate în tulburările gastrointestinale, cum ar fi boala inflamatorie intestinală (IBD). De exemplu, nivelurile de bacterii *Clostridium* din grupul XIVa sunt reduse la pacienții cu IBD, în timp ce numărul de *E coli* este crescut, ceea ce sugerează o schimbare a echilibrului simbioților și patobionților în intestin [6–9]. Interesant, această disbioză microbiană este, de asemenea, asociată cu dezechilibre în populațiile de celule T efectoare.

[0004] Ca o recunoaștere a efectului pozitiv potențial pe care anumite tulpini bacteriene îl pot avea asupra intestinului animal, au fost propuse diferite tulpini pentru utilizarea în tratamentul diferitelor boli (vezi, de exemplu, [10–13]). De asemenea, anumite tulpini, inclusiv cele mai multe tulpini de *Lactobacillus* și *Bifidobacterium* au fost propuse pentru a fi utilizate în tratarea diferitelor boli inflamatorii și autoimune care nu sunt direct legate de intestine (vezi [14] și [15] pentru discuții). Cu toate acestea, relația dintre diferite boli și diferite tulpini bacteriene și efectele precise ale anumitor tulpini bacteriene asupra intestinului și la nivel sistemic și asupra oricăror tipuri de boli specifice sunt slab caracterizate.

[0005] S-a găsit că fragmente de perete celular de la *Streptococcus pyogenes*, *Lactobacillus casei* și diferite tulpini de *Eubacterium*, incluzând *E. contortum*, induc poliartrită cronică și inflamație a articulației (vezi [16]). Kanauchi et al. (Gastroenterology 2005, 128) au investigat un probiotic de *Eubacterium limosum* și metabolizii săi și efectele lor asupra funcționării barierei mucozale în colită.

[0006] Există o cerință în domeniu pentru noi metode de tratare a bolilor inflamatorii și autoimune. Există, de asemenea, o cerință pentru ca efectele potențiale ale bacteriilor intestinale să fie caracterizate astfel încât să poată fi dezvoltate noi terapii care utilizează bacterii intestinale.

REZUMATUL INVENȚIEI

[0007] Inventatorii au dezvoltat noi terapii pentru tratarea și prevenirea bolilor inflamatorii și autoimune. În particular, inventatorii au dezvoltat noi terapii pentru tratarea și prevenirea bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17. În particular, inventatorii au găsit că tulpinile bacteriene din specia *Eubacterium contortum* pot fi eficiente pentru tratarea și prevenirea bolilor inflamatorii sau autoimune, sau cancerului. Așa cum s-a descris în exemple, administrarea orală a compozițiilor cuprinzând *Eubacterium contortum* poate reduce severitatea răspunsului inflamator, incluzând răspunsul inflamator Th17, în modele la șoarece de uveită.

[0008] Invenția furnizează o compoziție care cuprinde o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum* pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a unei boli inflamatorii sau autoimune, sau a cancerului.

[0009] Invenția furnizează de asemenea un produs alimentar sau un vaccin cuprinzând compoziția din paragraful precedent, pentru utilizarea din paragraful precedent. Invenția furnizează de asemenea o celulă sau o cultură biologic pură de *Eubacterium contortum* tulpina MRX050 depozitată ca NCIMB 42689, opțional pentru utilizare în terapie, în plus opțional în care celula este pentru utilizare într-o metodă definită în paragraful precedent.

[0010] Invenția furnizează de asemenea o compoziție cuprinzând una sau mai multe tulpini bacteriene din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare în terapie.

[0011] Prin urmare, într-o primă realizare, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a unei boli inflamatorii sau autoimune, sau a cancerului. Inventatorii au identificat că tratamentul cu tulpini bacteriene din această specie poate oferi beneficii clinice în modele la șoarece de boli inflamatorii și autoimune mediate de IL-17 și calea Th17, poate reduce nivelurile de citokine care sunt o parte din calea Th17, incluzând IL-17, și poate atenua răspunsul inflamator Th17.

[0012] În realizări particulare, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a unei boli sau afecțiuni selectate din grupul constând din: uveită; cancer, cum ar fi cancer la sân, cancer pulmonar, cancer hepatic, cancer la colon, sau cancer ovarian; scleroză multiplă; artrită, cum ar fi artrită reumatoidă, osteoartrită, artrită psoriazică, sau artrită idiopatică juvenilă; neuromielită optică (boală Devic); spondilită anchilozantă; spondiloartrită; psoriazis; lupus eritematos sistemic; boală inflamatorie intestinală, cum ar fi boală Crohn sau colită ulcerativă; boală celiacă; astm, cum ar fi astm alergic sau astm neutrofilic; boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC); sclerită; vasculită; boală Behcet; ateroscleroză; dermatită atopică; emfizem; parodontită; rinită alergică; și respingerea alogrefei. Efectul arătat pentru tulpinile bacteriene din genul *Eubacterium* asupra răspunsului inflamator Th17 și asupra bolilor mediate de IL-17 și calea Th17 poate furniza beneficii terapeutice pentru alte boli și condiții mediate de IL-17 și calea Th17, cum ar fi cele listate mai sus.

[0013] În realizări în special preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a uveitei, cum ar fi uveită posterioară. Inventatorii au identificat că tratamentul cu tulpini *Eubacterium* poate reduce incidența bolii și severitatea bolii într-un model la șoarece de uveită și poate preveni sau reduce deteriorarea retinei. Compoziții care utilizează *Eubacterium contortum* pot fi în special eficiente pentru tratarea uveitei.

[0014] În alte realizări preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenirea a astmului, cum ar fi astm neutrofilic sau astm alergic. Tratamentul cu tulpini *Eubacterium* poate reduce recrutarea neutrofilelor și eozino-fielelor în plămâni, care poate ajuta tratamentul sau prevenirea astmului. În anumite realizări, compoziția este pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a astmului neutrofilic sau a astmului eozinofilic. Compozițiile invenției pot fi în special eficiente pentru tratarea sau prevenirea astmului neutrofilic și astmului eozinofilic. Într-adevăr, în anumite realizări, compoziția este pentru utilizare într-o metodă de reducerea a răspunsului inflamator neutrofilic în tratamentul sau prevenirea astmului, sau compoziția este pentru utilizare într-o metodă de reducere a unui răspuns inflamator eozinofilic în tratamentul sau prevenirea astmului. *Eubacterium contortum* poate avea un efect în special pronunțat asupra neutrofilelor în modele de astm și tratamentul cu *Eubacterium contortum* poate fi în special eficient pentru tratarea astmului neutrofilic.

[0015] În alte realizări preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a artritei reumatoide. Tratamentul cu tulpini *Eubacterium* poate furniza beneficii clinice într-un model la șoarece de artrită reumatoidă și reduce umflarea articulațiilor. Compoziții care utilizează *Eubacterium contortum* pot fi în special eficiente pentru tratarea artritei reumatoide.

[0016] În alte realizări preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a sclerozei multiple. Tratamentul cu tulpini *Eubacterium* poate reduce incidența bolii și severitatea bolii într-un model la șoarece de scleroză multiplă. Compoziții care utilizează *Eubacterium contortum* pot fi în special eficiente pentru tratarea sclerozei multiple.

[0017] În alte realizări preferate, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare într-o metodă de tratare sau prevenire a cancerului, cum ar fi cancer la sân, plămân sau cancer hepatic. Compoziții care cuprind o tulpină bacteriană din genul *Eubacterium* pot reduce creșterea tumorii în modele la șoarece de cancer la sân, plămân și hepatic. În anumite realizări, compoziția este pentru utilizare într-o metodă de reducere a dimensiunii tumorii sau prevenire a creșterii tumorii în tratamentul cancerului.

[0018] În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare într-o metodă de reducere a producerii IL-17 sau reducere a diferențierii celulei Th17 în tratamentul sau prevenirea bolii inflamatorii sau autoimune, sau a cancerului. În particular, compozițiile invenției pot fi utilizate în reducerea producerii IL-17 sau reducerea diferențierii celulei Th17 în tratamentul sau prevenirea astmului, artritei reumatoide, sclerozei multiple, uveitei sau cancerului. Preferabil, invenția furnizează compoziții cuprinzând o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare în reducerea producerii IL-17 sau reducerea diferențierii celulei Th17 în tratamentul sau prevenirea astmului, artritei reumatoide, sclerozei multiple, uveitei sau cancerului.

[0019] În anumite realizări, compoziția este pentru utilizare la un pacient cu niveluri ridicate de IL-17 sau celule Th17. Efectul arătat pentru tulpini *Eubacterium* asupra uveitei, care este puternic asociat cu răspunsul inflamator Th17, înseamnă că tulpinile *Eubacterium* pot fi în special benefice pentru astfel de pacienți.

[0020] În realizări preferate ale invenției, tulpina bacteriană are o secvență rARN 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID

NO:1, 2, 3 sau 4. Preferabil, identitatea de secvență este cu SEQ ID NO:4. Preferabil, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are secvența rARN 16S reprezentată prin SEQ ID NO:4.

[0021] În anumite realizări, compoziția invenției este pentru administrare orală. Administrarea orală a tulpinilor invenției poate fi eficientă pentru tratarea bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17. De asemenea, administrarea orală este convenabilă pentru pacienți și practicieni și permite livrare la și / sau colonizare parțială sau totală a intestinului.

[0022] În anumite realizări, compoziția conform invenției cuprinde unul sau mai mulți excipienți sau vehicule acceptabile farmaceutic.

[0023] În anumite realizări, compoziția conform invenției cuprinde o tulpină bacteriană care a fost liofilizată. Liofilizarea este o tehnică eficientă și convenabilă pentru prepararea compozițiilor stabile care permit livrarea de bacterii.

[0024] În anumite realizări, invenția furnizează un produs alimentar cuprinzând compoziția descrisă mai sus.

[0025] În anumite realizări, invenția furnizează o compoziție de vaccin cuprinzând compoziția descrisă mai sus.

[0026] În plus, dezvăluirea furnizează o metodă de tratare sau prevenire a unei boli inflamatorii sau autoimune, sau a cancerului, cuprinzând administrarea unei compoziții care cuprinde o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*.

[0027] În dezvoltarea invenției de mai sus, inventatorii au identificat și caracterizat o tulpină bacteriană care este deosebit de utilă pentru terapie. Tulpina de *Eubacterium contortum* conform invenției este dovedită a fi eficientă pentru tratarea bolilor descrise aici, cum ar fi uveită. De aceea, într-un alt aspect, invenția furnizează o celulă dintr-o tulpină de *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689). Invenția furnizează, de asemenea, compoziții cuprinzând astfel de celule sau culturi de astfel de celule, biologic pure. Invenția furnizează, de asemenea, o celulă din tulpina *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689), pentru utilizare în terapie, în particular pentru bolile descrise aici.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

[0028]

Figura 1: Model la șoarece de uveită - Scoruri TEFI în grupul de control. Datele sunt prezentate ca Medie $\pm$ SEM.

Figura 2: Model la șoarece de uveită - Scoruri TEFI în Ziua 28. Datele sunt prezentate ca Medie Medie $\pm$ SEM.

DESCRIEREA INVENȚIEI

Tulpini bacteriene

[0029] Compozițiile conform invenției cuprind o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*. Exemplele demonstrează că bacteriile din această specie sunt

utile pentru tratarea sau prevenirea uveitei și bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17.

[0030] Invenția furnizează o *Eubacterium contortum* pentru utilizare în terapie, de exemplu, pentru utilizare în tratarea sau prevenirea unei boli inflamatorii și/sau autoimune. În mod similar, invenția furnizează o compoziție care cuprinde o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, pentru utilizare în terapie, de exemplu, pentru utilizare în tratarea sau prevenirea unei boli inflamatorii și/sau autoimune. În anumite realizări, compozițiile invenției cuprind *Eubacterium contortum*, și nu conțin nici un alt gen de bacterie. În anumite realizări, compozițiile invenției cuprind *Eubacterium contortum*, și nu conțin nici o altă specie bacteriană. În anumite realizări, compozițiile invenției cuprind o singură tulpină de *Eubacterium contortum* și nu conțin nici o altă tulpină sau specie bacteriană.

[0031] *Eubacterium* sunt tije gram pozitive, obligatoriu anaerobe, care nu formează spori care nu produc acid propionic sau acid lactic ca produs acid major [17]. Tipul de tulpină de *Eubacterium contortum* ATCC 25540 = DSM 3982 [17]. Numere de acces GenBank pentru secvența genei rARN 16S pentru tulpina *Eubacterium contortum* DSM 3982 sunt FR749945, FR749946 și L34615 (divulgate aici ca SEQ ID NO:1-3). Tulpini *Eubacterium contortum* exemplare sunt descrise în [17].

[0032] În unele realizări, o compoziție pentru utilizare în invenție nu cuprinde *Eubacterium ventriosum*. În unele realizări, o compoziție pentru utilizare în invenție nu cuprinde *Eubacterium eligens*.

[0033] Bacteria *Eubacterium contortum* testată în Exemple este denumită în acest document ca tulpină MRX050. O secvență rARN 16S pentru tulpina MRX050 care a fost testată este dată în SEQ ID NO:4. Tulpina MRX050 a fost depozitată la autoritatea depozitară internațională NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scoția) de către 4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scoția) pe 15 noiembrie 2016 și i-a fost desemnat număr de acces NCIMB 42689. Termenii "MRX050" și "MRx0050" sunt utilizați interschimbabil aici.

[0034] Tulpinile bacteriene strâns înrudite cu tulpina testată în exemple sunt, de asemenea, de așteptat să fie eficiente pentru tratarea sau prevenirea uveitei și bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17. În anumite realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență de ARN 16s care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu secvența ARN 16s a unei tulpini bacteriene de *Eubacterium contortum*. De preferință, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție are o secvență de rARN 16S care este cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identică cu SEQ ID NO: 1, 2, 3 sau 4. Preferabil, identitatea secvenței este cu SEQ ID NO: 4. De preferință, tulpina bacteriană utilizată în invenție are secvența rARN 16s reprezentată prin SEQ ID NO: 4.

[0035] Tulpini bacteriene care sunt biotipuri ale tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) și ATCC 25540 sunt de asemenea estimate a fi eficiente pentru tratarea sau prevenirea uveitei și bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17. Un biotip este o tulpină înrudită îndeaproape care are aceleași caracteristici fiziologice sau biochimice sau foarte asemănătoare.

[0036] Tulpini care sunt biotipuri ale tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540 și care sunt adecvate pentru utilizare în invenție pot fi identificate prin secvențierea altor secvențe de nucleotide pentru tulpini MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540. De exemplu, substanțial întreg genomul poate fi secvențiat și o tulpină biotip pentru utilizare în invenție

poate avea identitate de secvență de cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% în cel puțin 80% din întregul său genom (de exemplu, în cel puțin 85 %, 90%, 95% sau 99% sau în întregul genom). De exemplu, în unele realizări, o tulpină de biotip are cel puțin 98% identitate de secvență în cel puțin 98% din genomul său sau cel puțin 99% identitate de secvență în 99% din genomul său. Alte secvențe adecvate pentru utilizare în identificarea tulpinilor de biotip pot include secvențe hsp60 sau repetitive cum ar fi BOX, ERIC, (GTG)-uri sau REP sau [18]. Secțiunile biotip pot avea secvențe cu identitate de secvență de cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% față de secvența corespunzătoare a tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540.. În unele realizări, o tulpină biotip are o secvență cu cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identitate de secvență cu secvența corespunzătoare a tulpinii MRX050 depozitată ca NCIMB 42689 și cuprinde o secvență rARN 16S care este cel puțin 99% identică (de exemplu cel puțin 99,5% sau cel puțin 99,9% identică) cu SEQ ID NO:4. În unele realizări, o tulpină biotip are o secvență cu cel puțin 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% sau 99,9% identitate de secvență cu secvența corespunzătoare a tulpinii MRX050 depozitată ca NCIMB 42689 și are secvența rARN 16S din SEQ ID NO:4.

[0037] Alternativ, tulpini care sunt biotipuri ale tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540 și care sunt adecvate pentru utilizare în invenție pot fi identificate prin utilizarea tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540 și analiza fragmentului de restricție și/sau analiza PCR, de exemplu utilizând polimorfismul lungimii fragmentelor amplificate fluorescent (FAFLP) și amprente digitale ale elementelor repetate (rep)-PCR sau profilarea proteinelor sau a secvențializării parțiale a 16S sau 23S a rADN. În variantele preferate, astfel de tehnici pot fi utilizate pentru a identifica alte tulpini *Eubacterium contortum*.

[0038] În anumite realizări, tulpini care sunt biotipuri ale tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540 și care sunt adecvate pentru utilizare în invenție sunt tulpini care furnizează același tipar ca tulpinile MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540 atunci când sunt analizate prin analiza de restricție a ADN-ului ribozomal amplificat (ARDRA), de exemplu atunci când se utilizează enzime de restricție Sau3AI (pentru exemple de metode și indicații vezi, de exemplu, [19]). În mod alternativ, tulpinile de biotip sunt identificate ca tulpini care au aceleași modele de fermentație cu carbohidrați ca tulpini MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540.

[0039] Alte tulpini de *Eubacterium contortum* care sunt utile în compozițiile și metodele conform invenției, cum ar fi biotipuri ale tulpinilor MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540, pot fi identificate utilizând orice metodă sau strategie adecvată, inclusiv testele descrise în exemple. De exemplu, tulpinile pentru utilizare în invenție pot fi identificate prin cultivarea în YCFA anaerob și/sau administrarea bacteriilor la modelul de artrită indusă de collagen de tip II la șoareci și apoi evaluarea nivelurilor de citokină. În particular, tulpinile bacteriene care au modele de creștere similare, tip metabolic și/sau antigeni de suprafață cu tulpinile MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540 pot fi utile în invenție. O tulpină utilă va avea activitate modulară imunitară comparabilă cu tulpinile MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) sau ATCC 25540. În particular, o tulpină de biotip va produce efecte comparabile asupra modelelor de uveită cu efectele prezentate în Exemple, care pot fi identificate prin utilizarea protocoalelor de cultură și administrare descrise în Exemple.

[0040] O tulpină în special preferată a invenției este tulpina MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689). Aceasta este tulpina exemplară testată în exemple și care s-a arătat a fi eficientă pentru tratarea bolii. Prin urmare, invenția furnizează o celulă, cum ar fi o celulă izolată, din tulpina *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689). Invenția furnizează de asemenea o compoziție cuprinzând o celulă din tulpina *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689). Invenția furnizează de asemenea o cultură biologic pură de *Eubacterium contortum* tulpina MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689). Invenția furnizează de asemenea o celulă din tulpina *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689), pentru utilizare în terapie, în particular pentru bolile descrise aici. un derivat al tulpinii de *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) poate fi o tulpină fiică (descendentă) sau o tulpină cultivată (subclonată) din original.

[0041] Un derivat al unei tulpini conform invenției poate fi modificat, de exemplu, la nivel genetic, fără a elimina activitatea biologică. În particular, o tulpină derivată conform invenției este activă din punct de vedere terapeutic. O tulpină derivată va avea activitate modulară imunitară comparabilă cu tulpina *Eubacterium contortum* MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689). În particular, o tulpină derivată va provoca efecte comparabile asupra modelelor bolii cancerului cu efectele prezentate în Exemple, care pot fi identificate prin utilizarea protocoalelor de cultivare și administrare descrise în Exemple. Un derivat al tulpinii MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689) va fi, în general, un biotip al tulpinii MRX050 (în particular MRX050 depozitată ca NCIMB 42689).

[0042] Referirile la celulele din tulpina de *Eubacterium contortum* MRX050 cuprind orice celule care au aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpina MRX050 și astfel de celule sunt cuprinse de către dezvăluire. Referirile la MRX050 depozitată ca NCIMB 42689 se referă numai la tulpina depozitată MRX050.

[0043] În realizările preferate, tulpinile bacteriene din compozițiile invenției sunt viabile și capabile să colonizeze parțial sau total intestinul.

Utilizări terapeutice

[0044] Așa cum s-a demonstrat în exemple, compozițiile bacteriene ale invenției sunt eficiente pentru reducerea răspunsului inflamator Th17. În particular, tratamentul cu compozițiile invenției obține îmbunătățiri clinice în modele la animale ale condițiilor mediate de IL-17 și calea Th17 și pot obține o reducere a nivelurilor IL-17A și al altor citokine din calea Th17. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea bolilor inflamatorii și autoimune, și în particular a bolilor sau condițiilor mediate de IL-17. În particular, compozițiile invenției pot fi utile pentru reducerea sau prevenirea creșterii răspunsului inflamator IL-17.

[0045] Celulele Th17 sunt un subset al celulelor T helper care produc, de exemplu, IL-17A, IL17-F, IL-21 și IL-22. Diferențierea celulelor Th17 și expresia IL-17 poate fi controlată de IL-23. Aceste citokine și altele formează părți importante din calea Th17, care este o cale de semnalizare inflamatorie bine-stabilită care contribuie la și stă la baza unui număr de boli inflamatorii și autoimune (cum s-a descris în, de exemplu, [20-25]). Bolile în care calea Th17 este activată sunt boli mediate de calea Th17. Bolile mediate de calea Th17 pot fi ameliorate sau atenuate prin reprimarea căii Th17, care poate fi printr-o reducere a diferențierii celulelor Th17 sau o reducere a activității lor sau o reducere a nivelului de citokine din calea Th17. Bolile mediate de calea Th17 pot fi

caracterizate prin niveluri crescute de citokine produse de celulele Th17, cum ar fi IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-26, IL-9 (analizate în [26]). Bolile mediate de calea Th17 pot fi caracterizate prin expresie crescută a genelor în legătură cu Th-17, cum ar fi Stat3 sau IL-23R. Bolile mediate de calea Th17 pot fi asociate cu niveluri crescute de celule Th17.

[0046] IL-17 este o citokină pro-inflamatorie care contribuie la patogeneza câtorva boli și condiții inflamatorii și autoimune. IL-17 așa cum s-a utilizat în acest document se poate referi la orice membru din familia IL-17, incluzând IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, și IL-17F. Bolile și condițiile mediate de IL-17 sunt caracterizate prin expresie ridicată a IL-17 și/sau acumularea sau prezența celulelor IL-17-pozitive într-un țesut afectat de boală sau afecțiune. În mod similar, bolile și condițiile mediate de IL-17 sunt boli și condiții care sunt exacerbate prin niveluri ridicate de IL-17 sau o creștere în nivelurile IL-17, și care sunt ameliorate prin niveluri scăzute de IL-17 sau o reducere a nivelurilor de IL-17. Răspunsul inflamator IL-17 poate fi local sau sistemic.

[0047] Exemplele de boli și condiții care pot fi mediate de calea IL-17 sau Th17 includ uveită; cancer, cum ar fi cancer la sân, cancer pulmonar, cancer hepatic, cancer la colon, sau cancer ovarian; scleroză multiplă; artrită, cum ar fi artrită reumatoidă, osteoartrită, artrită psoriazică, sau artrită idiopatică juvenilă; neuromielită optică (Boală Devic); spondilită anchilozantă; spondiloartrită; psoriazis; lupus eritematos sistemic; boală inflamatorie intestinală, cum ar fi boală Crohn sau colită ulcerativă; boală celiacă; astm, cum ar fi astm alergic sau astm neutrofilic; boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC); sclerită; vasculită; boală Behcet; ateroscleroză; dermatită atopică; emfizem; parodontită; rinită alergică; și respingerea alogrefei. În realizări preferate, compozițiile invenției sunt utilizate pentru tratarea sau prevenirea uneia sau mai multora dintre aceste condiții sau boli. În alte realizări preferate, aceste condiții sau boli sunt mediate de calea IL-17 sau Th17. În unele realizări, boala sau afecțiunea tratată de invenție nu este cancer colorectal și/sau colită.

[0048] În unele realizări, patogeneza bolii sau afecțiunii afectează intestinul. În unele realizări, patogeneza bolii sau afecțiunii nu afectează intestinul. În unele realizări, patogeneza bolii sau afecțiunii nu este localizată la intestin. În unele realizări, tratarea sau prevenirea are loc la un loc altul decât la intestin. În unele realizări, tratarea sau prevenirea are loc la intestin și de asemenea la un loc altul decât la intestin. În anumite realizări, boala sau afecțiunea este sistemică.

[0049] În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare într-o metodă de reducere a producerii IL-17 sau reducere a diferențierii celulei Th17 în tratamentul sau prevenirea unei boli inflamatorii sau autoimune, sau a cancerului. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea unei boli inflamatorii sau autoimune, în care tratamentul sau prevenirea menționate sunt obținute prin reducerea sau prevenirea creșterii răspunsului inflamator Th17. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea unui pacient cu o boală inflamatorie sau autoimună, în care pacientul are niveluri ridicate de IL-17 sau niveluri ridicate de celule Th17 sau prezintă un răspuns inflamator Th17. În anumite realizări, pacientul poate să fi fost diagnosticat cu o boală sau afecțiune inflamatorie sau autoimună cronică, sau compoziția invenției poate fi pentru utilizare în prevenirea unei boli inflamatorii sau autoimune sau a unei afecțiuni care se dezvoltă într-o boală sau afecțiune inflamatorie sau autoimună cronică. În anumite realizări, boala sau afecțiunea poate să nu răspundă la tratament cu inhibitori ai TNF- α . Aceste utilizări ale invenției pot fi aplicate oricărei boli sau condiții specifice enumerate în paragraful precedent.

[0050] IL-17 și calea Th17 sunt adesea asociate cu boli inflamatorii și autoimune cronice, deci compozițiile invenției pot fi în special utile pentru tratarea sau prevenirea bolilor sau

condițiilor cronice cum s-au enumerat mai sus. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru utilizare la pacienți cu boală cronică. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru utilizare în prevenirea dezvoltării bolii cronice.

[0051] Compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17 și pentru abordarea răspunsului inflamator Th17, astfel compozițiile invenției pot fi în special utile pentru tratarea sau prevenirea bolii cronice, tratarea sau prevenirea bolii la pacienți care nu au răspuns la alte terapii (cum ar fi tratament cu inhibitori ai TNF- α), și/sau tratarea sau prevenirea deteriorării țesutului și simptomelor asociate cu IL-17 și celule Th17. De exemplu, IL-17 este cunoscut că activează distrugererea matricei în cartilaj și țesut osos și IL-17 are un efect inhibitor asupra producerii matricei în condrocite și osteoblaste, astfel compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea eroziunii osului sau deteriorării cartilajului.

[0052] În anumite realizări, tratamentul cu compoziții ale invenției furnizează o reducere sau previne o creștere a nivelurilor de IL-17, în particular a nivelurilor de IL-17A. În anumite realizări, tratamentul cu compoziții ale invenției furnizează o reducere sau previne o creștere a nivelurilor de TNF α , IFN- γ sau IL-6. Astfel de reducere sau prevenire a nivelurilor ridicate ale acestor citokine pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea bolilor și condițiilor inflamatorii și autoimune, în particular cele mediate de calea IL-17 sau Th17.

Uveită

[0053] În realizări preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea uveitei. Exemplele demonstrează că compozițiile invenției obțin o reducere a incidenței bolii și a severității bolii într-un model la animal de uveită și deci ele pot fi utile în tratamentul sau prevenirea uveitei. Uveita este o inflamație a uveei și poate conduce la distrugere a țesutului retinal. Ea se poate prezenta în diferite forme anatomice (anterioară, intermediară, posterioară sau difuză) și rezultă din diferite, dar legate între ele, cauze, incluzând tulburări autoimune sistemice. IL-17 și calea Th17 sunt central implicate în uveită, astfel eficacitatea compozițiilor invenției pentru tratarea uveitei indică faptul că pot fi în special eficiente compozițiile invenției pentru tratarea și prevenirea bolilor și condițiilor mediate de calea IL-17 sau Th17. Referințele [27-34] descriu niveluri serice ridicate de interleukină-17A la pacienți cu uveită, asociere specifică a variantelor genetice de IL17A cu panuveită, rolul citokinelor asociate cu Th17 în patogeniza uveitei experimentale autoimune, dezechilibrul între celule Th17 și celule T reglatoare în timpul uveitei experimentale autoimune monofazice, reglarea pozitivă a IL-17A la pacienți cu uveită și boli active Adamantiades-Behçet și Vogt-Koyanagi-Harada (VKH), tratamentul uveitei non-infecțioase cu secukinumab (anticorp anti-IL-17A), și Th17 la ochi uveitic.

[0054] În anumite realizări, uveita este uveită posterioară. Uveita posterioară prezintă în primul rând inflamație a retinei și coroidelor și exemplele demonstrează că compozițiile invenției sunt eficiente pentru reducerea inflamației și deteriorării retinei.

[0055] În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la o reducere a deteriorării retinei. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea sau prevenirea deteriorării retinei în tratamentul uveitei. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru utilizare în tratarea pacienților cu uveită severă care prezintă risc de deteriorare a retinei. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la o reducere a inflamației discului optic. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea sau prevenirea inflamației discului optic. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la o reducere a infiltrării țesutului retinal de către celule inflamatorii. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în

reducerea infiltrării țesutului retinal de către celule inflamatorii. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la menținerea sau îmbunătățirea vederii. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în menținerea sau îmbunătățirea vederii.

[0056] În anumite realizări, compozițiile sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea uveitei asociate cu o boală non-nfecțioasă sau autoimună, cum ar fi boală Behçet, boală Crohn, iridociclita heterocromică Fuchs, granulomatoză cu poliangiită, uveită legată de HLA-B27, artrită idiopatică juvenilă, sarcoidoză, spondiloartrită, oftalmie simpatică, nefrită tubulointerstițială și sindrom de uveită sau sindrom Vogt-Koyanagi-Harada. S-a arătat că IL-17A este implicată în, de exemplu, boli Behçet și Vogt-Koyanagi-Harada.

[0057] Tratamentul sau prevenirea uveitei se poate referi la, de exemplu, o ameliorare a severității simptomelor sau o prevenire a recidivei.

Cancer

[0058] În realizări preferate, compozițiile conform invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea cancerului. IL-17 și calea Th17 au roluri centrale în dezvoltarea și progresul cancerului, și astfel compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea cancerului.

[0059] Deși rolurile IL-17 și celulelor Th17 în cancer nu sunt complet înțelese, sunt cunoscute numeroase efecte pro-tumoare ale IL-17 și celulelor Th17. De exemplu, celulele Th17 și IL-17 pot promova angiogeneza, pot crește proliferarea și supraviețuirea celulelor tumorale și activează factori de transcripție care promovează tumoarea [35-37].

[0060] În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției are ca rezultat o reducere a mărimii tumorii sau o reducere a creșterii tumorii. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt utilizate pentru reducerea mărimii tumorii sau pentru reducerea creșterii tumorii. Compozițiile conform invenției pot fi eficace pentru reducerea mărimii sau a creșterii tumorii. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt destinate utilizării la pacienții cu tumori solide. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt utilizate pentru reducerea sau prevenirea angiogenezei în tratamentul cancerului. IL-17 și celulele Th17 au roluri centrale în angiogeneză. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt pentru utilizare în prevenirea metastazelor.

[0061] În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt utilizate pentru tratarea sau prevenirea cancerului mamar. Compozițiile conform invenției pot fi eficace pentru tratarea cancerului mamar și IL-17 și celulele Th17 au roluri importante în cancerul la sân [38]. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt utilizate pentru reducerea mărimii tumorii, reducerea creșterii tumorii sau reducerea angiogenezei în tratamentul cancerului mamar. În variantele preferate, cancerul este carcinom mamar. În variantele preferate, cancerul este cancer mamar în stadiul IV.

[0062] În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt destinate utilizării în tratarea sau prevenirea cancerului pulmonar. Compozițiile conform invenției pot fi eficace pentru tratarea cancerului pulmonar și IL-17 și celulele Th17 au roluri importante în cancerul pulmonar [39]. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt pentru utilizare în reducerea mărimii tumorii, reducerea creșterii tumorii sau reducerea angiogenezei în tratamentul cancerului pulmonar. În variantele preferate, cancerul este carcinom pulmonar.

[0063] În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt destinate utilizării în tratarea sau prevenirea cancerului hepatic. Compozițiile conform invenției pot fi eficiente pentru tratarea cancerului hepatic și IL-17 și celulele Th17 au roluri importante în cancer hepatic [40]. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt utilizate pentru reducerea mărimii tumorii, reducerea creșterii tumorale sau reducerea angiogenezei în tratamentul cancerului hepatic. În realizările preferate, cancerul este hepatom (carcinom hepatocelular).

[0064] În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt destinate utilizării în tratarea sau prevenirea carcinomului. Compozițiile conform invenției pot fi în special eficiente pentru tratarea carcinomului. În anumite realizări, compozițiile conform invenției sunt destinate utilizării în tratarea sau prevenirea cancerului non-imunogen. Compozițiile conform invenției pot fi eficiente pentru tratarea cancerelor non-imunogene.

[0065] În alte realizări, compozițiile conform invenției sunt utilizate pentru tratarea sau prevenirea leucemiei limfoblastice acute (ALL), a leucemiei mieloide acute, a carcinomului adrenocortical, a carcinomului bazocelular, a cancerului de duct biliar, a cancerului vezical, a tumorii osoase, a osteosarcomului/histiocitomului fibros malign, gliomului trunchiului cerebral, tumorilor cerebrale, astrocitomului cerebelar, gliomului malign, ependimomului, meduloblastomului, tumorilor neuroectodermice primitive supratentoriale, cancerului mamar, adenoamelor/carcinoidului bronșic, limfomului Burkitt, tumorii carcinoide, cancerului de col uterin, leucemiei limfocitare cronice, leucemiei mielogene cronice, tulburărilor mieloproliferative cronice, cancerului la colon, limfomului cutanat cu celule T, cancerului endometrial, ependimomului, cancerului la esofag, sarcomului Ewing, melanomului intraocular, retinoblastomului, cancerului vezicii biliare, cancerului gastric, tumorii carcinoide gastrointestinale, tumori stromale gastrointestinale (GIST), tumorii cu celule germinative, gliomului, căii vizuale din copilărie și hipotalamice, limfomului Hodgkin, melanomului, carcinomului celulelor insule, sarcomului Kaposi, cancerului celulelor renale, cancerului laringian, leucemiei, limfomului, mezoteliomului, neuroblastomului, limfomului non-Hodgkin, cancerului orofaringian, osteosarcomului, cancerului ovarian, cancerului pancreatic, cancerului paratiroidian, cancerului faringian, adenomului hipofizar, neoplaziei celulelor plasmice, cancerului de prostată, carcinomului celulelor renale, retinoblastomului, sarcomului, cancerului testicular, cancerului tiroidian sau cancerului uterin.

[0066] Compozițiile conform invenției pot fi deosebit de eficiente atunci când sunt utilizate în combinație cu alți agenți terapeutici. Efectele imunomodulatoare ale compozițiilor conform invenției pot fi eficiente când sunt combinate cu agenți anti-cancerigeni mai direcți. Prin urmare, în anumite realizări, invenția furnizează o compoziție care cuprinde o tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum* și un agent anticanceros. În variantele preferate, agentul anti-canceros este un inhibitor al punctului de control imunitar, o imunoterapie cu anticorpi țintă, o terapie cu celule CAR-T, un virus oncolitic sau un medicament citostatic. În realizările preferate, compoziția cuprinde un agent anticancer selectat din grupul constând din: Yervoy (ipilimumab, BMS); Keytruda (pembrolizumab, Merck); Opdivo (nivolumab, BMS); MEDI4736 (AZ/ MedImmune); MPDL3280A (Roche / Genentech); Tremelimumab (AZ/MedImmune); CT-011 (pidilizumab, CureTech); BMS-986015 (lirilumab, BMS); MEDI0680 (AZ/MedImmune); MSB-0010718C (Merck); PF-05082566 (Pfizer); MEDI6469 (AZ/MedImmune); BMS-986016 (BMS); BMS-663513 (urelumab, BMS); IMP321 (Prima Biomed); LAG525 (Novartis); ARGX-110 (arGEN-X); PF-05082466 (Pfizer); CDX-1127 (varlilumab; CellDex Therapeutics); TRX-518 (GITR Inc.); MK-4166 (Merck); JTX-2011 (Jounce Therapeutics); ARGX-115 (arGEN-X); NLG-9189 (indoximod, NewLink Genetics); INCB024360 (Incyte); IPH2201 (Innate Immunotherapeutics/AZ); NLG-919 (NewLink Genetics); anti-VISTA (JnJ); Epacadostat

(INCB24360, Incyte); F001287 (Flexus/BMS); CP 870893 (Universitatea din Pennsylvania); MGA271 (MacroGenix); Emactuzumab (Roche/Genentech); Galunisertib (Eli Lilly); Ulocuplumab (BMS); BKT140/BL8040 (Biokine Therapeutics); Baviximab (Peregrine Pharmaceuticals); CC 90002 (Celgene); 852A (Pfizer); VTX-2337 (VentiRx Pharmaceuticals); IMO-2055 (Hybridon, Idera Pharmaceuticals); LY2157299 (Eli Lilly); EW-7197 (Universitatea pentru Femei, Ewha, Coreea); Vemurafenib (Plexxikon); Dabrafenib (Genentech/ GSK); BMS-777607 (BMS); BLZ945 (Centrul Memorial pentru Studiul Cancerului Sloan-Kettering); Unituxin (dinutuximab, United Therapeutics Corporation); Blincito (blinatumomab, Amgen); Cyramza (ramucirumab, Eli Lilly); Gazyva (obinutuzumab, Roche/Biogen); Kadcilla (adotrazumab emtansină, Roche/Genentech); Perjeta (pertuzumab, Roche/Genentech); Adcetris (brentuximab vedotin, Takeda/Millennium); Arzerra (ofatumumab, GSK); Vectibix (panitumumab, Amgen); Avastin (bevacizumab, Roche/Genentech); Erbitux (cetuximab, BMS/Merck); Bexxar (tositumomab-1131, GSK); Zevalin (ibritumomab tiuxetan, Biogen); Campath (alemtuzumab, Bayer); Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin, Pfizer); Herceptin (trastuzumab, Roche/Genentech); Rituxan (rituximab, Genentech/Biogen); volociximab (Abbvie); Enavatuzumab (Abbvie); ABT-414 (Abbvie); Elotuzumab (Abbvie/BMS); ALX-0141 (Ablynx); Ozaralizumab (Ablynx); Actimab-C (Actinium); Actimab-P (Actinium); Milatuzumab-dox (Actinium); Emab-SN-38 (Actinium); Naptumomab estafenatox (Active Biotech); AFM13 (Affimed); AFM11 (Affimed); AGS-16C3F (Agensys); AGS-16M8F (Agensys); AGS-22ME (Agensys); AGS-15ME (Agensys); GS-67E (Agensys); ALXN6000 (samalizumab, Alexion); ALT-836 (Altor Bioscience); ALT-801 (Altor Bioscience); ALT-803 (Altor Bioscience); AMG780 (Amgen); AMG 228 (Amgen); AMG820 (Amgen); AMG172 (Amgen); AMG595 (Amgen); AMG110 (Amgen); AMG232 (adecatumumab, Amgen); AMG211 (Amgen/MedImmune); BAY20-10112 (Amgen/Bayer); Rilotumumab (Amgen); Denosumab (Amgen); AMP-514 (Amgen); MEDI575 (AZ/MedImmune); MEDI3617 (AZ/MedImmune); MEDI6383 (AZ/MedImmune); MEDI551 (AZ/MedImmune); Moxetumomab pasudotox (AZ/MedImmune); MEDI565 (AZ/MedImmune); MEDI0639 (AZ/MedImmune); MEDI0680 (AZ/MedImmune); MEDI562 (AZ/MedImmune); AV-380 (AVEO); AV203 (AVEO); AV299 (AVEO); BAY79-4620 (Bayer); Anetumab ravtansină (Bayer); vantictumab (Bayer); BAY94-9343 (Bayer); Sibrotuzumab (Boehringer Ingelheim); BI-836845 (Boehringer Ingelheim); B-701 (BioClin); BLIB015 (Biogen); Obinutuzumab (Biogen/Genentech); BI-505 (Bioinvent); BI-1206 (Bioinvent); TB-403 (Bioinvent); BT-062 (Biotest) BIL-010t (Biosceptor); MDX-1203 (BMS); MDX-1204 (BMS); Necitumumab (BMS); CAN-4 (Cantargia AB); CDX-011 (Celldex); CDX1401 (Celldex); CDX301 (Celldex); U3-1565 (Daiichi Sankyo); patritumab (Daiichi Sankyo); tigatuzumab (Daiichi Sankyo); nimotuzumab (Daiichi Sankyo); DS-8895 (Daiichi Sankyo); DS-8873 (Daiichi Sankyo); DS-5573 (Daiichi Sankyo); MORab-004 (Eisai); MORab-009 (Eisai); MORab-003 (Eisai); MORab-066 (Eisai); LY3012207 (Eli Lilly); LY2875358 (Eli Lilly); LY2812176 (Eli Lilly); LY3012217 (Eli Lilly); LY2495655 (Eli Lilly); LY3012212 (Eli Lilly); LY3012211 (Eli Lilly); LY3009806 (Eli Lilly); cixutumumab (Eli Lilly); Flanvotumab (Eli Lilly); IMC-TR1 (Eli Lilly); Ramucirumab (Eli Lilly); Tabalumab (Eli Lilly); Zanolimumab (Emergent Biosolution); FG-3019 (FibroGen); FPA008 (Five Prime Therapeutics); FP-1039 (Five Prime Therapeutics); FPA144 (Five Prime Therapeutics); catumaxomab (Fresenius Biotech); IMAB362 (Ganymed); IMAB027 (Ganymed); HuMax-CD74 (Genmab); HuMax-TFADC (Genmab); GS-5745 (Gilead); GS-6624 (Gilead); OMP-21M18 (demcizumab, GSK); mapatumumab (GSK); IMGN289 (ImmunoGen); IMGN901 (ImmunoGen); IMGN853 (ImmunoGen); IMGN529 (ImmunoGen); IMMU-130 (Immunomedics); milatuzumab-dox (Immunomedics); IMMU-115 (Immunomedics); IMMU-132 (Immunomedics); IMMU-106 (Immunomedics); IMMU-102 (Immunomedics); Epratuzumab (Immunomedics); Clivatuzumab (Immunomedics); IPH41 (Innate Immunotherapeutics); Daratumumab (Janssen/Genmab); CNTO-95 (Intetumumab,

Janssen); CNTO-328 (siltuximab, Janssen); KB004 (KaloBios); mogamulizumab (Kyowa Hakko Kirrin); KW-2871 (ecromeximab, Life Sciences); Sonepcizumab (Lpath); Margetuximab (Macrogenics); Enoblituzumab (Macrogenics); MGD006 (Macrogenics); MGF007 (Macrogenics); MK-0646 (dalotuzumab, Merck); MK-3475 (Merck); Sym004 (Symphogen/Merck Serono); D117E6 (Merck Serono); MOR208 (Morphosys); MOR202 (Morphosys); Xmab5574 (Morphosys); BPC-1C (ensituximab, Precision Biologies); TAS266 (Novartis); LFA102 (Novartis); BHQ880 (Novartis/ Morphosys); QGE031 (Novartis); HCD122 (lucatumumab, Novartis); LJM716 (Novartis); AT355 (Novartis); OMP-21M18 (Demizzumab, OncoMed); OMP52M51 (Oncomed/GSK); OMP-59R5 (Oncomed/GSK); vantictumab (Oncomed/Bayer); CMC-544 (inotuzumab ozogamicin, Pfizer); PF-03446962 (Pfizer); PF-04856884 (Pfizer); PSMA-ADC (Progenics); REGN1400 (Regeneron); REGN910 (nesvacumab, Regeneron/Sanofi); REGN421 (enoticumab, Regeneron/Sanofi); RG7221, RG7356, RG7155, RG7444, RG7116, RG7458, RG7598, RG7599, RG7600, RG7636, RG7450, RG7593, RG7596, DCDS3410A, RG7414 (parsatuzumab); RG7160 (imgatuzumab); RG7159 (obintuzumab); RG7597 (Roche/Genentech); SAR307746 (Sanofi); SAR566658 (Sanofi); SAR650984 (Sanofi); SAR153192 (Sanofi); SAR3419 (Sanofi); SAR256212 (Sanofi); SGN-LIV1A (lntuzumab, Seattle Genetics); SGN-CD33A (Seattle Genetics); SGN-75 (vorsetuzumab mafodotin, Seattle Genetics); SGN-19A (Seattle Genetics); SGN-CD70A (Seattle Genetics); SEA-CD40 (Seattle Genetics); ibritumomab tiuxetan (Spectrum); MLN0264 (Takeda); ganitumab (Takeda/Amgen); CEP-37250 (Teva); TB-403 (trombogen); VB4-845 (Viventia); Xmab2512 (Xencor); Xmab5574 (Xencor); nimotuzumab (YM Biosciences); Carlumab (Janssen); NY-ESO TCR (Adaptimmune); MAGE-A-10 TCR (Adaptimmune); CTL019 (Novartis); JCAR015 (Juno Therapeutics); KTE-C19 CAR (Kite Pharma); UCART19 (Cellectis); BPX-401 (Bellicum Pharmaceuticals); BPX-601 (Bellicum Pharmaceuticals); ATTCK20 (Unum Therapeutics); CAR-NKG2D (Celyad); Onyx-015 (Onyx Pharmaceuticals); H101 (Shanghai Sunwaybio); DNX-2401 (ADNtrix); VCN-01 (VCN Biosciences); Colo-Ad1 (PsiOxus Therapeutics); ProstAtak (Advantagene); Oncos-102 (Oncos Therapeutics); CG0070 (Cold Genesys); Pexa-vac (JX-594, Jennerex Biotherapeutics); GL-ONC1 (Genelux); T-VEC (Amgen); G207 (Medigene); HF10 (Takara Bio); SEPREHVIR (HSV1716, Virttu Biologies); OrienX010 (OrienGene Biotechnology); Reolizin (Oncolytics Biotech); SW-001 (Neotropix); Cacatak (CVA21, Viralytics); Alimta (Eli Lilly), cisplatină, oxaliplatină, irinotecan, acid folinic, metotrexat, ciclofosamidă, 5-fluorouracil, Zykadia (Novartis), Tafinlar (GSK), Xalkori (Pfizer), Iressa (AZ), Gilotrif (Boehringer Ingelheim). Tarceva (Astellas Pharma), Halifen (Eisai Pharma), Veliparib (Abbvie), AZD9291 (AZ), Alectinib (Chugai), LDK378 (Novartis), Genetespib (Synta Pharma), Tergenpumatucel-L (NewLink Genetics) GV1001 (Kael-GemVax), Tivantinib (ArQule); Cytosan (BMS); Oncovin (Eli Lilly); Adriamicine (Pfizer); Gemzar (Eli Lilly); Xeloda (Roche); Ixempra (BMS); Abraxan (Celgene); Trelstar (Debiopharm); Taxotere (Sanofi); Nexavar (Bayer); IMMU-132 (Immunomedics); E7449 (Eisai); Thermodox (Celsion); Cometriq (Exelixis); Lonsurf (Taiho Pharmaceuticals); Camptosar (Pfizer); UFT (Taiho Pharmaceuticals); și TS-1 (Taiho Pharmaceuticals).

[0067] În unele realizări, una sau mai multe tulpini bacteriene de *Eubacterium contortum*, sunt singurii agenți terapeutici activi într-o compoziție conform invenției. În unele realizări, tulpina sau tulpinile bacteriene din compoziție sunt singurii agenți activi terapeutic într-o compoziție conform invenției.

Astm

[0068] În realizări preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea astmului. Compozițiile invenției pot obține o reducere în recrutarea neutrofilelor și/sau eozinofilelor în căile respiratorii după sensibilizare și provocare cu extract de acarieni de praf domestici și deci ele pot fi utile în tratamentul sau prevenirea astmului. Astmul este o boală cronică caracterizată prin inflamație și restricție a căilor respiratorii. Inflamația în astm poate fi mediată de IL-17 și/sau celule Th17, și deci compozițiile invenției pot fi în special eficiente pentru prevenirea sau tratarea astmului. Inflamația în astm poate fi mediată de eozinofile și/sau neutrofile.

[0069] În anumite realizări, astmul este astm eozinofilic sau astm alergic. Astmul eozinofilic și alergic sunt caracterizate prin numere crescute de eozinofile în sânge periferic și în secrețiile din căi aeriene și este asociat patologic cu îngroșarea zonelor membranei de bază și farmacologic prin răspuns la corticosteroid [41]. Compozițiile care reduc sau inhibă recrutarea sau activarea eozinofilelor pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea astmului eozinofilic și alergic.

[0070] În realizări suplimentare, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea astmului neutrofilic (sau astmului non-eozinofilic). Numere ridicate de neutrofile sunt asociate cu astm sever care poate fi insensibil la tratament cu corticosteroid. Compozițiile care reduc sau inhibă recrutarea sau activarea neutrofilelor pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea astmului neutrofilic.

[0071] Astmul eozinofilic și neutrofilic nu sunt condiții reciproc exclusive și tratamente care ajută abordarea oricăror răspunsuri eosinofile și neutrofile pot fi utile pentru tratarea astmului în general.

[0072] Niveluri crescute de IL-17 și activarea căii Th17 sunt asociate cu astm sever, deci compozițiile invenției pot fi utile pentru prevenirea dezvoltării astmului sever sau pentru tratarea astmului sever.

[0073] În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în metode de reducere a unui răspuns inflamator eozinofilic în tratamentul sau prevenirea astmului, sau pentru utilizare în metode de reducere a răspunsului inflamator neutrofilic în tratamentul sau prevenirea astmului. Cum s-a notat mai sus, niveluri ridicate de eozinofile în astm sunt asociate patologic cu îngroșare a zonelor membranei de bază, deci reducerea răspunsului inflamator eozinofil în tratamentul sau prevenirea astmului poate fi capabilă să trateze specific această caracteristică a bolii. De asemenea, niveluri ridicate de neutrofile, fie în combinație cu niveluri ridicate de eozinofile sau în absența lor, sunt asociate cu astm sever și îngustare cronică a căilor aeriene. Prin urmare, reducerea răspunsului inflamator neutrofilic poate fi în special utilă pentru tratarea astmului sever.

[0074] În anumite realizări, compozițiile reduc infiltrarea peribronhiolară în astm alergic, sau sunt pentru utilizare în reducerea infiltrării peribronhiolare în tratamentul astmului alergic. În anumite realizări, compozițiile reduc infiltrarea peribronchiolară și/sau perivasculară în astmul neutrofilic, sau sunt pentru utilizare în reducerea infil-trării peribronhiolare și/sau perivasculară în tratamentul astmului neutrofilic alergic.

[0075] În anumite realizări, tratamentul cu compoziții ale invenției furnizează o reducere sau previn o creștere a nivelurilor de TNF α .

[0076] În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare într-o metodă de tratare a astmului care conduce la o reducere a răspunsului eozinofilic și/sau inflamator neutrofilic. În anumite realizări, pacientul care trebuie tratat are, sau a fost anterior identificat ca având, niveluri ridicate de neutrofile sau eozinofile, de exemplu identificate prin recoltarea unei mostre de sânge sau analiza sputei.

[0077] Compozițiile invenției pot fi utile pentru prevenirea dezvoltării astmului la un nou născut când se administrează nou născutului, sau unei femei gravide. Compozițiile pot fi utile pentru prevenirea dezvoltării astmului la copii. Compozițiile invenției pot fi utile pentru tratarea sau prevenirea astmului cu debut la adult. Compozițiile invenției pot fi utile pentru gestionarea sau atenuarea astmului. Compozițiile invenției pot fi în special utile pentru reducerea simptomelor asociate cu astm care sunt agravate de alergenii, cum ar fi acarienii de praf domestici.

[0078] Tratamentul sau prevenirea astmului se pot referi la, de exemplu, o ameliorare a severității simptomelor sau o reducere a frecvenței exacerbărilor sau a intervalului de declanșare care sunt o problemă pentru pacient.

Artrită

[0079] În realizări preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea artritei reumatoide (RA). Compozițiile invenției pot obține o reducere în semnele clinice de RA într-un model la șoarece, pot reduce deteriorarea cartilajului și osului, și pot reduce răspunsul inflamator IL-17, și astfel ele pot fi utile în tratamentul sau prevenirea artritei reumatoide. Artrita reumatoidă este o tulburare inflamatorie sistemică în primul rând afectând articulațiile. RA este asociată cu un răspuns inflamator care conduce la umflarea articulațiilor, hiperplazia sinovială, și distrugere a cartilajului și osului. IL-17 și celulele Th17 pot avea un rol cheie în RA, de exemplu deoarece IL-17 inhibă producerea de matrice în condrocite și osteoblaste și activează producția și funcția metaloproteinazelor matriceale și deoarece activitatea artritei reumatoide este corelată cu nivelurile de IL-17 și numerele de celule Th-17 [42,43], deci compozițiile invenției pot fi în special eficiente pentru prevenirea sau tratarea RA.

[0080] În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în scăderea nivelurilor de IL-17 sau prevenirea creșterii nivelurilor de IL-17 în tratamentul sau prevenirea RA. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției furnizează o reducere sau previne o creștere a nivelurilor IL-17, în particular nivelurile de IL-17A. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției furnizează o reducere sau previne o creștere a nivelurilor de IFN- γ sau IL-6.

[0081] În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la o reducere a umflării articulațiilor. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare la pacienți cu articulații umflate sau pacienți identificați ca riscând să aibă articulații umflate. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare într-o metodă de reducere a umflării articulațiilor în RA.

[0082] În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la o reducere a deteriorării cartilajului sau deteriorării osului. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea sau prevenirea deteriorării cartilajului sau osului în tratamentul RA. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru utilizare în tratarea unui pacient cu artrită reumatoidă severă care riscă deteriorarea cartilajului sau osului.

[0083] Niveluri crescute de IL-17 și numerele crescute de celule Th17 sunt asociate cu distrugerea cartilajului și osului în RA [42,43]. Este cunoscut că IL-17 activează distrugerea matricei în cartilaj și țesut osos și IL-17 are un efect inhibitor asupra producerii de matrice în condrocite și osteoblaste. Prin urmare, în anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în prevenirea eroziunii osului sau deteriorării cartilajului în tratamentul RA. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru utilizare în tratarea pacienților care prezintă eroziune osoasă sau deteriorare a cartilajului sau pacienți identificați ca riscând eroziune sau deteriorare a cartilajului.

[0084] TNF- α este de asemenea asociat cu RA, dar TNF- α nu este implicat în patogeniza stadiilor mai târzii ale bolii. În contrast, IL-17 are un rol prin toate stadiile de boală cronică [44]. Prin urmare, în anumite realizări compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea RA cronice sau RA în stadiu târziu, cum ar fi boală care include distrugerea articulației și pierderea cartilajului. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru tratarea pacienților care au primit anterior o terapie anti-TNF- α . În anumite realizări, pacienții care trebuie să fie tratați nu răspund sau nu mai răspund la terapie anti-TNF- α .

[0085] Compozițiile invenției pot fi utile pentru modularea sistemului imunitar al unui pacient, deci în anumite realizări compozițiile invenției sunt pentru utilizare în prevenirea RA la un pacient care a fost identificat ca riscând RA, sau care a fost diagnosticat cu RA în stadiu timpuriu. Compozițiile invenției pot fi utile pentru prevenirea dezvoltării RA.

[0086] Compozițiile invenției pot fi utile pentru gestionarea sau atenuarea RA. Compozițiile invenției pot fi în special utile pentru reducerea simptomelor asociate cu umflarea articulațiilor sau distrugerea osului. Tratamentul sau prevenirea RA se pot referi la, de exemplu, o ameliorare a severității simptomelor sau o reducere a frecvenței exacerbărilor sau a intervalului de declanșare care sunt o problemă pentru pacient.

Scleroză multiplă

[0087] În realizări preferate, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în tratarea sau prevenirea sclerozei multiple. Compozițiile invenției pot obține o reducere a incidenței bolii și a severității bolii într-un model la șoarece de scleroză multiplă (modelul EAE), și deci ele pot fi utile în tratamentul sau prevenirea sclerozei multiple. Scleroza multiplă este o tulburare inflamatorie asociată cu deteriorarea tecilor de mielină ale neuronilor, în special în creier și coloană vertebrală. Scleroza multiplă este o boală cronică, care incapacitează progresiv și care evoluează în episoade. IL-17 și celulele Th17 pot avea un rol cheie în scleroza multiplă, de exemplu deoarece nivelurile de IL-17 se pot corela cu leziuni din scleroză multiplă, IL-17 poate întrerupe joncțiunile strânse ale celulelor endoteliale din bariera hematoencefalică, și celulele Th17 pot migra în sistemul nervos central și pot cauza pierdere neuronală [45,46]. Prin urmare, compozițiile invenției pot fi în special eficiente pentru prevenirea sau tratarea sclerozei multiple.

[0088] În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției conduce la o reducere a incidenței bolii sau severității bolii. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în reducerea incidenței bolii sau severității bolii. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției previne o scădere în funcția motorie sau conduce la funcție motorie îmbunătățită. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în prevenirea unei scăderi a funcției motorii sau pentru utilizare în îmbunătățirea funcției motorii. În anumite realizări, tratamentul cu compozițiile invenției previne dezvoltarea paraliziei. În anumite realizări, compozițiile invenției sunt pentru utilizare în prevenirea paraliziei în tratamentul sclerozei multiple.

[0089] Compozițiile invenției pot fi utile pentru modularea sistemului imunitar al pacientului, deci în anumite realizări compozițiile invenției sunt pentru utilizare în prevenirea sclerozei multiple la un pacient care a fost identificat ca riscând scleroză multiplă, sau care a fost diagnosticat cu scleroză multiplă în stadiu timpuriu sau scleroză multiplă "recidivantă-remisivă". Compozițiile invenției pot fi utile pentru prevenirea dezvoltării sclerozei.

[0090] Compozițiile invenției pot fi utile pentru gestionarea sau atenuarea sclerozei multiple. Compozițiile invenției pot fi în special utile pentru reducerea simptomelor

asociate cu scleroza multiplă. Tratamentul sau prevenirea sclerozei multiple se poate referi la, de exemplu, o ameliorare a severității simptomelor sau o reducere a frecvenței exacerbărilor sau a intervalului de declanșare care sunt o problemă pentru pacient.

Moduri de administrare

[0091] De preferință, compozițiile conform invenției urmează să fie administrate la nivelul tractului gastrointestinal pentru a permite eliberarea și/sau colonizarea parțială sau totală a intestinului cu tulpina bacteriană a invenției. În general, compozițiile invenției sunt administrate pe cale orală, dar pot fi administrate rectal, intranazal sau prin căile bucală sau sublinguală.

[0092] În anumite realizări, compozițiile conform invenției pot fi administrate ca o spumă, sub formă de spray sau gel.

[0093] În anumite realizări, compozițiile conform invenției pot fi administrate sub formă de supozitoare, cum ar fi un supozitor rectal, de exemplu sub formă de ulei de theobroma (unt de cacao), grăsime sintetică tare (de exemplu suppocire, witepsol), glicero-polietilen glicol sau compoziție de săpun de glicerină.

[0094] În anumite realizări, compoziția conform invenției este administrată la nivelul tractului gastrointestinal printr-un tub, cum ar fi un tub nasogastric, un tub orogastric, un tub gastric, un tub de jejunostomie (tub J), gastrostomia endoscopică percutanată (PEG) ca un port de perete toracic care oferă acces la stomac, jejun și alte porturi de acces adecvate.

[0095] Compozițiile conform invenției pot fi administrate o dată sau pot fi administrate secvențial ca parte a unui regim de tratament. În anumite realizări, compozițiile conform invenției trebuie administrate zilnic.

[0096] În anumite realizări ale invenției, tratamentul conform invenției este însoțit de evaluarea microbiotei intestinale a pacientului. Tratamentul poate fi repetat dacă nu se realizează administrarea și/sau colonizarea parțială sau totală cu tulpina conform invenției, astfel încât eficacitatea nu este observată sau tratamentul poate fi încetat dacă succesiunea și/sau colonizarea parțială sau totală este de succes și se observă eficacitatea.

[0097] În anumite realizări, compoziția conform invenției poate fi administrată la un animal gestant, de exemplu un mamifer cum ar fi un om, în scopul de a preveni dezvoltarea unei boli inflamatorii sau autoimune la copilul său *in utero* și/sau după ce s-a născut.

[0098] Compozițiile conform invenției pot fi administrate unui pacient care a fost diagnosticat cu o boală sau afecțiune mediată de calea IL-17 sau Th17, sau care a fost identificat ca riscând o boală sau afecțiune mediată de calea IL-17 sau Th17. Compozițiile pot fi, de asemenea, administrate ca o măsură profilactică pentru a preveni dezvoltarea bolilor sau condițiilor mediate de IL-17 sau calea Th17 la un pacient sănătos.

[0099] Compozițiile conform invenției pot fi administrate unui pacient care a fost identificat ca având o microbiotă anormală a intestinului. De exemplu, pacientul poate avea o colonizare redusă sau absentă cu *Eubacterium*.

[0100] Compozițiile conform invenției pot fi administrate ca un produs alimentar, cum ar fi un supliment nutrițional.

[0101] În general, compozițiile conform invenției sunt pentru tratamentul oamenilor, deși pot fi utilizate pentru a trata animale, inclusiv mamifere monogastrice, cum ar fi păsări de curte, porci, pisici, câini, cai sau iepuri. Compozițiile conform invenției pot fi utile pentru creșterea creșterii și performanței animalelor. Dacă se administrează la animale, se poate utiliza gavajul oral.

Compoziții

[0102] În general, compoziția conform invenției cuprinde bacterii. În realizările preferate ale invenției, compoziția este formulată sub formă liofilizată. De exemplu, compoziția conform invenției poate cuprinde granule sau capsule gelatinoase, de exemplu capsule de gelatină tare, care cuprind o tulpină bacteriană conform invenției.

[0103] De preferință, compoziția conform invenției cuprinde bacterii liofilizate. Liofilizarea bacteriilor este o procedură bine stabilită și există o orientare relevantă, de exemplu în referințele [47–49].

[0104] În mod alternativ, compoziția conform invenției poate cuprinde o cultură activă de bacterii vii.

[0105] În unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția conform invenției nu a fost inactivată, de exemplu, nu a fost inactivată termic. În unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția conform invenției nu a fost ucisă, de exemplu, nu a fost ucisă termic. În unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția conform invenției nu a fost atenuată, de exemplu, nu a fost atenuată termic. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția conform invenției nu a fost ucisă, inactivată și/sau atenuată. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției este vie. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția conform invenției este viabilă. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția invenției este capabilă să colonizeze parțial sau total intestinul. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană din compoziția conform invenției este viabilă și capabilă să colonizeze parțial sau total intestinul.

[0106] În unele realizări, compoziția cuprinde un amestec de tulpini bacteriene vii și tulpini bacteriene care au fost ucise.

[0107] În realizările preferate, compoziția conform invenției este încapsulată pentru a permite eliberarea tulpinii bacteriene în intestin. Încapsularea protejează compoziția de degradare până la livrarea la locul țintă, de exemplu de degradare prin ruperea cu stimuli chimici sau fizici, cum ar fi presiunea, activitatea enzimatică sau dezintegrarea fizică, care poate fi declanșată de modificări ale valorii pH. Se poate utiliza orice metodă adecvată de încapsulare. Exemple de tehnici de încapsulare includ captarea într-o matrice poroasă, atașarea sau adsorbția pe suprafețele purtătoare solide, autoagregarea prin floculare sau cu agenți de reticulare și izolarea mecanică în spatele unei membrane microporoasă sau a unei microcapsule. Indicații privind încapsularea care pot fi utile pentru prepararea compozițiilor conform invenției sunt disponibile, de exemplu, în referințele [50] și [51].

[0108] Compoziția poate fi administrată pe cale orală și poate fi sub formă de tabletă, capsulă sau pulbere. Produsele încapsulate sunt preferate deoarece *Eubacterium contortum* sunt anaerobe. Alte ingrediente (cum ar fi vitamina C, de exemplu) pot fi incluse ca agenți de absorbție a oxigenului și substraturi prebiotice pentru a îmbunătăți eliberarea și/sau colonizarea parțială sau totală și supraviețuirea *in vivo*. În mod alternativ, compoziția probiotică a invenției poate fi administrată pe cale orală ca produs alimentar

sau nutrițional, cum ar fi produsul lactat fermentat pe bază de lapte sau pe bază de zer sau ca produs farmaceutic.

[0109] Compoziția poate fi formulată ca un probiotic.

[0110] O compoziție a invenției include o cantitate eficientă terapeutică dintr-o tulpină bacteriană conform invenției. O cantitate eficientă din punct de vedere terapeutic dintr-o tulpină bacteriană este suficientă pentru a exercita un efect benefic asupra unui pacient. O cantitate eficientă terapeutică dintr-o tulpină bacteriană poate fi suficientă pentru a duce la administrarea și/sau colonizarea parțială sau totală a intestinului pacientului.

[0111] O doză zilnică adecvată de bacterii, de exemplu pentru un om adult, poate fi de la circa 1×10^3 până la circa 1×10^{11} unități formatoare de colonii (CFU); de exemplu, de la circa 1×10^7 până la circa 1×10^{10} CFU; într-un alt exemplu de la circa 1×10^6 până la circa 1×10^{10} CFU.

[0112] În anumite realizări, compoziția conține tulpina bacteriană într-o cantitate de circa 1×10^6 la circa 1×10^{11} CFU/g, în raport cu greutatea compoziției; de exemplu, de la circa 1×10^8 la circa 1×10^{10} UFC/g. Doza poate fi, de exemplu, de 1 g, 3 g, 5 g și 10 g.

[0113] În mod tipic, un probiotic, cum ar fi compoziția conform invenției, este opțional combinat cu cel puțin un compus prebiotic adecvat. Un compus prebiotic este de obicei un carbohidrat nedigestibil, cum ar fi o oligo- sau polizaharidă sau un alcool din zahăr, care nu este degradat sau absorbit în tractul digestiv superior. Prebioticele cunoscute includ produse comerciale precum inulina și transgalacto-oligozaharidele.

[0114] În anumite realizări, compoziția probiotică a prezentei invenții include un compus prebiotic într-o cantitate de la circa 1 până la circa 30% din masă, față de masa totală a compoziției (de exemplu, de la 5 la 20% din masă). Carbohidrații pot fi selectați din grupul constând din fructo-oligozaharide (sau FOS), fructo-oligozaharide cu catenă scurtă, inulină, izomalt-oligozaharide, pectine, xilo-oligozaharide (sau XOS), chitosan-oligozaharide (sau COS), beta-glucani, gumă arabică, amidon modificat și rezistent, polidextroză, D-tagatoză, fibre de salcâm, carob, ovăz și fibre de citrice. Într-un aspect, prebioticele sunt fructo-oligozaharide cu catenă scurtă (pentru simplitate, prezentate mai jos, ca FOS-c.c); respectivele FOS-c.c. nu sunt carbohidrați digerabili, în general obținuți prin conversia zahărului din sfeclă și incluzând o moleculă de zaharoză la care sunt legate trei molecule de glucoză.

[0115] Compozițiile conform invenției pot cuprinde excipienți sau vehicule acceptabile farmaceutic. Exemple de astfel de excipienți adecvați pot fi găsiți în referința [52]. Vehiculele sau diluanții acceptabili pentru utilizare terapeutică sunt bine cunoscuți în domeniul farmaceutic și sunt descriși, de exemplu, în referința [53]. Exemplele de vehicule adecvate includ lactoză, amidon, glucoză, metilceluloză, stearat de magneziu, manitol, sorbitol și altele asemenea. Exemplele de diluanți adecvați includ etanolul, glicerolul și apa. Alegerea vehiculului, a excipientului sau a diluantului farmaceutic poate fi selectată în funcție de calea de administrare dorită și de practica farmaceutică standard. Compozițiile farmaceutice pot cuprinde ca sau în afară de vehicul, excipient sau diluant orice liant adecvat, lubrifiant sau lubrifiant, agent sau agenți de punere în suspensie, agent sau agenți de acoperire, agent sau agenți de solubilizare. Exemplele de lianți adecvați include amidon, gelatină, zaharuri naturale cum ar fi glucoza, lactoză anhidră, lactoză cu curgere liberă, beta-lactoză, îndulcitori de porumb, gumă naturală și sintetică, cum ar fi de salcâm, tragacantă sau alginat de sodiu, carboximetilceluloză și polietilenglicol. Exemplele de lubrifianti adecvați includ oleat de sodiu, stearat de sodiu, stearat de magneziu, benzoat de sodiu, acetat de sodiu, clorură de sodiu și alții

asemenea. În compoziția farmaceutică pot fi furnizați conservanți, stabilizatori, coloranți și chiar arome. Exemple de conservanți includ benzoatul de sodiu, acidul sorbic și esterii acidului p-hidroxibenzoic. Pot fi de asemenea utilizați antioxidanți și agenți de punere în suspensie.

[0116] Compozițiile conform invenției pot fi formulate ca un produs alimentar. De exemplu, un produs alimentar poate oferi beneficii nutriționale în plus față de efectul terapeutic al invenției, cum ar fi un supliment nutrițional. În mod similar, un produs alimentar poate fi formulat pentru a îmbunătăți gustul compoziției conform invenției sau pentru a face compoziția mai atractivă pentru a fi consumată prin faptul că este mai asemănătoare cu un produs alimentar comun decât cu o compoziție farmaceutică. În anumite realizări, compoziția conform invenției este formulată ca un produs pe bază de lapte. Termenul „produs pe bază de lapte” înseamnă orice produs lichid sau semi-solid pe bază de lapte sau de zer având un conținut de grăsimi variat. Produsul pe bază de lapte poate fi, de exemplu, lapte de vacă, lapte de capră, lapte de oaie, lapte degresat, lapte integral, lapte recombinat din lapte praf și zer fără prelucrare sau un produs prelucrat cum ar fi iaurt, lapte congelat, lapte bătut, lapte acru, lapte acru integral, unt din lapte și alte produse din lapte acru. Un alt grup important include băuturi din lapte, cum ar fi băuturi din zer, lapte fermentat, lapte condensat, lapte pentru sugari sau bebeluși; lapte aromatizat, înghețată; alimente care conțin lapte, cum ar fi dulciuri.

[0117] În unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind una sau mai multe tulpini bacteriene din specia *Eubacterium contortum* și nu conțin bacterii din nici un alt gen, sau cuprind numai cantități minime sau irelevante biologic de bacterii dintr-un alt gen. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție care cuprinde una sau mai multe tulpini bacteriene din specia *Eubacterium contortum*, care nu conține bacterii din nici un alt gen sau care cuprinde numai cantități minime sau irelevante biologic de bacterii dintr-un alt gen pentru utilizare în terapie.

[0118] În anumite realizări, compozițiile invenției conțin o singură tulpină bacteriană sau specie și nu conțin nici o altă tulpină bacteriană sau specie. Astfel de compoziții pot cuprinde numai cantități minime sau irelevante biologic din alte tulpini bacteriene sau specii. Astfel de compoziții pot fi o cultură care este substanțial fără alte specii de organisme. Astfel, în unele realizări, invenția furnizează o compoziție cuprinzând o singură tulpină bacteriană din specia *Eubacterium contortum*, care nu conține bacterii din nici un alt gen sau cuprinde numai cantități minime sau irelevante biologic de bacterii dintr-un alt gen, pentru utilizare în terapie.

[0119] În unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind mai mult de o tulpină sau o specie bacteriană. De exemplu, în unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind mai mult de o tulpină din cadrul aceleiași specii (de exemplu, mai mult de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 25, 30, 35, 40 sau 45 de tulpini) și, opțional, nu conțin bacterii din alte specii. În unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind mai puțin de 50 de tulpini din aceeași specie (de exemplu mai puțin de 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 sau 3 tulpini) și, opțional, nu conțin bacterii din alte specii. În unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind 1–40, 1–30, 1–20, 1–19, 1–18, 1–15, 1–10, 1–9, 1–8, 1–7, 1–6, 1–5, 1–4, 1–3, 1–2, 2–50, 2–40, 2–30, 2–20, 2–15, 2–10, 2–5, 6–30, 6–15, 16–25 sau 31–50 dintre aceleași specii și, opțional, nu conțin bacterii din alte specii. În unele realizări, compozițiile invenției cuprind mai mult de o specie din același gen (de exemplu mai mult de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 23, 25, 30, 35 sau 40 de specii) și, opțional, nu conțin bacterii din nici un alt gen. În unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind mai puțin de 50 de specii din același gen (de exemplu mai puțin de 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 8, 7, 6, 5, 4 sau 3 specii) și, opțional, nu conțin bacterii din nici un alt gen. În unele realizări, compozițiile conform invenției cuprind 1–50,

1–40, 1–30, 1–20, 1–15, 1–10, 1–9, 1–8, 1–7, 1–6, 1–5, 1–4, 1–3, 1–2, 2–50, 2–40, 2–30, 2–20, 2–15, 2–10, 2–5, 6–30, 6–15, 16–25 sau 31–50 specii din același gen și, opțional, nu conțin bacterii din nici un alt gen. Invenția cuprinde orice combinație a celor de mai sus.

[0120] În unele realizări, compoziția cuprinde un consorțiu microbian. De exemplu, în unele realizări, compoziția cuprinde tulpina bacteriană *Eubacterium contortum*, ca parte a unui consorțiu microbian. De exemplu, în unele realizări, tulpina bacteriană *Eubacterium contortum* este prezentă în combinație cu una sau mai multe tulpini bacteriene (de exemplu cel puțin 2, 3, 4, 5, 10, 15 sau 20) din alte genuri cu care aceasta poate trăi simbiotic *in vivo* în intestin. De exemplu, în unele realizări, compoziția cuprinde o tulpină bacteriană de *Eubacterium contortum*, în combinație cu o tulpină bacteriană dintr-un gen diferit. În unele realizări, consorțiul microbian cuprinde două sau mai multe tulpini bacteriene obținute dintr-o probă de fecale dintr-un singur organism, de exemplu un om. În unele realizări, consorțiul microbian nu este găsit împreună în natură. De exemplu, în unele realizări, consorțiul microbian cuprinde tulpini bacteriene obținute din probele de fecale din cel puțin două organisme diferite. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt din aceeași specie, de exemplu doi oameni diferiți. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt un copil uman și un adult uman. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt doi adulți umani diferiți. În unele realizări, cele două organisme diferite sunt un mamifer uman și unul non-uman.

[0121] În unele realizări, compoziția conform invenției cuprinde suplimentar o tulpină bacteriană care are aceleași caracteristici de siguranță și eficacitate terapeutică ca tulpina MRX050, depozitată ca NCIMB 42689, dar care nu este MRX050 depozitată ca NCIMB 42689, sau care nu este o *Eubacterium contortum*, sau care nu este o *Eubacterium*.

[0121] În unele realizări, în care compoziția conform invenției cuprinde mai mult de o tulpină, specie sau genuri bacteriene, tulpinile, speciile sau genurile bacteriene individuale pot fi pentru administrare separată, simultană sau secvențială. De exemplu, compoziția poate cuprinde toate tulpinile, speciile sau genurile bacteriene, sau tulpinile, speciile sau genurile bacteriene pot fi stocate separat și pot fi administrate separat, simultan sau secvențial. În unele realizări, mai multe tulpini, specii sau genuri bacteriene sunt stocate separat, dar sunt amestecate împreună înainte de utilizare.

[0123] În unele realizări, tulpina bacteriană pentru utilizare în invenție este obținută din materiile fecale de la un om adult. În unele realizări în care compoziția conform invenției cuprinde mai mult de o tulpină bacteriană, toate tulpinile bacteriene sunt obținute din materiile fecale umane de un om adult sau, dacă sunt prezente alte tulpini bacteriene, ele sunt prezente numai în cantități minime. Bacteriile s-ar putea să fi fost cultivate ulterior obținerii din materiile fecale de la un om adult și utilizate într-o compoziție a invenției.

[0124] Așa cum s-a menționat mai sus, în unele variante, tulpina bacteriană conform invenției este singurul agent activ terapeutic într-o compoziție conform invenției. În unele realizări, tulpina sau bacteriile bacteriene din compoziție sunt singurii agenți activi terapeutic într-o compoziție a invenției.

[0125] Compozițiile pentru utilizare în conformitate cu invenția pot sau nu să necesite aprobarea de comercializare.

[0126] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană menționată este liofilizată. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană menționată este uscată prin pulverizare. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai

sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau uscată prin pulverizare și în care aceasta este vie. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau uscată prin pulverizare și în care aceasta este viabilă. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau uscată prin pulverizare și în care aceasta este capabilă să colonizeze parțial sau total intestinul. În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care tulpina bacteriană este liofilizată sau uscată prin pulverizare și în care aceasta este viabilă și capabilă să colonizeze parțial sau total intestinul.

[0127] În unele cazuri, tulpina bacteriană liofilizată sau uscată prin pulverizare este reconstituită înainte de administrare. În unele cazuri, reconstituirea se face prin utilizarea unui diluant descris aici.

[0128] Compozițiile conform invenției pot cuprinde excipienți, diluanți sau purtători acceptabili farmaceutici.

[0129] În anumite realizări, invenția furnizează o compoziție farmaceutică cuprinzând: o tulpină bacteriană așa cum s-a utilizat în invenție; și un excipient, purtător sau diluant acceptabil farmaceutic; în care tulpina bacteriană este într-o cantitate suficientă pentru a trata o tulburare când se administrează la un subiect care are nevoie de aceasta; și în care tulburarea este selectată din grupul constând din uveită; cancer, cum ar fi cancer la sân, cancer pulmonar, cancer hepatic, cancer la colon, sau cancer ovarian; scleroză multiplă; artrită, cum ar fi artrită reumatoidă, osteoartrită, artrită psoriazică, sau artrită idiopatică juvenilă; neuromielită optică (Boală Devic); spondilită anchilozantă; spondiloartrită; psoriazis; lupus eritematos sistemic; boală inflamatorie intestinală, cum ar fi boală Crohn sau colită ulcerativă; boală celiacă; astm, cum ar fi astm alergic sau astm neutrofilic; boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC); sclerită; vasculită; boală Behcet; ateroscleroză; dermatită atopică; emfizem; parodontită; rinită alergică; și respingerea alogrefei.

[0130] În anumite realizări, invenția furnizează compoziție farmaceutică cuprinzând: o tulpină bacteriană așa cum s-a utilizat în invenție; și un excipient, purtător sau diluant acceptabil farmaceutic; în care tulpina bacteriană este într-o cantitate suficientă pentru a trata sau preveni o boală inflamatorie sau autoimună sau cancer. În realizări preferate, boala sau afecțiunea menționată este selectată din grupul constând din uveită; cancer, cum ar fi cancer la sân, cancer pulmonar, cancer hepatic, cancer la colon, sau cancer ovarian; scleroză multiplă; artrită, cum ar fi artrită reumatoidă, osteoartrită, artrită psoriazică, sau artrită idiopatică juvenilă; neuromielită optică (Boală Devic); spondilită anchilozantă; spondiloartrită; psoriazis; lupus eritematos sistemic; boală inflamatorie intestinală, cum ar fi boală Crohn sau colită ulcerativă; boală celiacă; astm, cum ar fi astm alergic sau astm neutrofilic; boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC); sclerită; vasculită; boală Behcet; ateroscleroză; dermatită atopică; emfizem; parodontită; rinită alergică; și respingerea alogrefei.

[0131] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care cantitatea de tulpină bacteriană este de circa 1×10^3 până la circa 1×10^{11} unități de formare a coloniilor pe gram în raport cu masa compoziției.

[0132] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care compoziția este administrată la o doză de 1 g, 3 g, 5 g sau 10 g.

[0133] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care compoziția este administrată printr-o metodă selectată din grupul constând din calea orală, rectală, subcutanată, nazală, bucală și sublinguală.

[0134] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un vehicul selectat din grupul constând din lactoză, amidon, glucoză, metilceluloză, stearat de magneziu, manitol și sorbitol.

[0135] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, care cuprinde un diluant selectat din grupul constând din etanol, glicerol și apă.

[0136] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un excipient selectat din grupul constând din amidon, gelatină, glucoză, lactoză anhidră, lactoză cu curgere liberă, beta-lactoză, îndulcitor din porumb, salcâm, tragacantă, alginat de sodiu, carboximetil celuloză, polietilenglicol, oleat de sodiu, stearat de sodiu, stearat de magneziu, benzoat de sodiu, acetat de sodiu și clorură de sodiu.

[0137] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând în plus cel puțin un agent de conservare, un antioxidant și un stabilizator.

[0138] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, cuprinzând un conservant selectat din grupul constând din benzoat de sodiu, acid sorbic și esterii ai acidului p-hidroxibenzoic.

[0139] În anumite realizări, invenția furnizează compoziția farmaceutică de mai sus, în care, atunci când compoziția este depozitată într-un recipient etanș la temperatura de circa 4°C sau circa 25°C și recipientul este plasat într-o atmosferă cu umiditate relativă de 50%, rămâne cel puțin 80% din tulpina bacteriană măsurată în unitățile formatoare de colonii, după o perioadă de cel puțin circa: 1 lună, 3 luni, 6 luni, 1 an, 1,5 ani, 2 ani, 2,5 ani sau 3 ani.

[0140] În unele realizări, compoziția conform invenției este furnizată într-un recipient etanș, cuprinzând o compoziție așa cum este descrisă aici. În unele realizări, recipientul etanș este un plic sau o sticlă. În unele realizări, compoziția conform invenției este furnizată într-o seringă care cuprinde o compoziție așa cum este descrisă aici.

[0141] Compoziția conform prezentei invenții poate, în unele realizări, să fie furnizată ca o formulare farmaceutică. De exemplu, compoziția poate fi furnizată ca o tabletă sau o capsulă. În unele realizări, capsula este o capsulă de gelatină („cap-gel”).

[0142] În unele realizări, compozițiile conform invenției sunt administrate pe cale orală. Administrarea orală poate implica înghițire, astfel încât compusul intră în tractul gastrointestinal, și/sau administrare bucală, linguală sau sublinguală prin care compusul intră în fluxul sanguin direct din gură.

[0143] Formulele farmaceutice adecvate pentru administrare orală includ dopuri solide, microparticule solide, semi-solide și lichide (incluzând faze multiple sau sisteme dispersate) cum ar fi tablete; capsule moi sau tari care conțin multi- sau nanoparticule, lichide (de exemplu soluții apoase), emulsii sau pulberi; pastile (inclusiv umplute cu lichid); gume de mestecat; geluri; forme de dozare cu dispersare rapidă; filme; ovule; spray-uri; și plasturi bucali/mucoadezivi.

[0144] În unele realizări, formularea farmaceutică este o formulare enterică, adică o formulare gastrorezistentă (de exemplu, rezistentă la pH-ul gastric) care este adecvată pentru livrarea compoziției conform invenției în intestin prin administrare orală. Formulele enterice pot fi deosebit de utile atunci când bacteria sau altă componentă a compoziției este sensibilă la acid, de exemplu este predispusă la degradare în condiții gastrice.

[0145] În unele realizări, formularea enterică cuprinde o acoperire enterică. În unele realizări, formularea este o formă de dozare acoperită enteric. De exemplu, formularea

poate fi o tabletă acoperită enteric sau o capsulă acoperită enteric sau asemenea. Acoperirea enterică poate fi o acoperire enterică convențională, de exemplu, o acoperire convențională pentru o tabletă, o capsulă sau asemenea pentru administrare orală. Formularea poate cuprinde o acoperire peliculară, de exemplu, un strat de film subțire dintr-un polimer enteric, de exemplu un polimer insolubil în acid.

[0146] În unele realizări, formularea enterică este intrinsec enterică, de exemplu, gastro-rezistentă fără a fi nevoie de o acoperire enterică. Astfel, în unele realizări, formularea este o formulare enterică care nu cuprinde o acoperire enterică. În unele realizări, formularea este o capsulă fabricată dintr-un material termogel. În unele realizări, materialul termogel este un material celulozic, cum ar fi metilceluloza, hidroximetilceluloza sau hidroxipropilmetilceluloza (HPMC). În unele realizări, capsula cuprinde o coajă care nu conține nici un polimer care formează peliculă. În unele realizări, capsula cuprinde o carcasă și carcasa cuprinde hidroxipropil-metilceluloză și nu cuprinde nici un polimer formator de peliculă (de exemplu vezi [54]). În unele variante, formularea este o capsulă enterică intrinsecă (de exemplu, Vcaps® de la Capsugel).

[0147] În unele realizări, formularea este o capsulă moale. Capsulele moi sunt capsule care, datorită adăugărilor de emolienți, cum ar fi, de exemplu, glicerolul, sorbitolul, maltitolul și polietilenglicolii, prezenți în carcasa capsulei, pot avea o anumită elasticitate și o ușoară moliciune. Capsulele moi pot fi produse, de exemplu, pe bază de gelatină sau amidon. Capsulele moi pe bază de gelatină sunt disponibile comercial de la diverși furnizori. În funcție de metoda de administrare, cum ar fi, de exemplu, orală sau rectală, capsulele moi pot avea diferite forme, ele pot fi, de exemplu, rotunde, ovale, alungite sau în formă de torpilă. Capsulele moi pot fi produse prin procedee convenționale, cum ar fi, de exemplu, prin procesul Scherer, procesul Accogel sau prin picurare sau prin procesul de suflare.

Metode de cultivare

[0148] Tulpinile bacteriene pentru utilizare în prezenta invenție pot fi cultivate utilizând tehnici standard de microbiologie, așa cum este detaliat, de exemplu, în referințele [55-57].

[0149] Mediul solid sau lichid utilizat pentru cultură poate fi agar YCFA sau mediu YCFA. Mediul YCFA poate include (pentru 100 ml, valori aproximative): Casitone (1,0 g), extract de drojdie (0,25 g), NaHCO_3 (0,4 g), cisteină (0,1 g), K_2HPO_4 (0,045 g), KH_2PO_4 (0,045 g), NaCl (0,09 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,09 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,009 g), CaCl_2 (0,009 g), resazurină (0,1 mg), hemină (1 mg), biotină (1 μg), cobalamină (1 μg), acid *p*-aminobenzoic (3 μg), acid folic (5 μg) și piridoxamină (15 μg).

Tulpinile bacteriene pentru utilizarea în compozițiile de vaccinuri

[0150] Inventatorii au găsit că tulpinile bacteriene conform invenției sunt utile pentru tratarea sau prevenirea bolilor sau condițiilor mediate de IL-17 sau calea Th17. Acesta este probabil un rezultat al efectului pe care tulpinile bacteriene conform invenției îl au asupra sistemului imunitar al gazdei. De aceea, compozițiile conform invenției pot fi, de asemenea, utile pentru prevenirea bolilor sau condițiilor mediate de IL-17 sau calea Th 17, atunci când sunt administrate ca și compoziții de vaccin. În anumite astfel de realizări, tulpinile bacteriene ale invenției sunt viabile. În anumite astfel de realizări, tulpinile bacteriene ale invenției sunt capabile să colonizeze parțial sau total intestinul. În anumite astfel de variante, tulpinile bacteriene ale invenției sunt viabile și capabile să colonizeze

parțial sau total intestinul. În alte anumite astfel de realizări, tulpinile bacteriene ale invenției pot fi ucise, inactivate sau atenuate. În anumite astfel de realizări, compozițiile pot cuprinde un adjuvant al vaccinului. În anumite realizări, compozițiile sunt pentru administrare prin injectare, cum ar fi prin injectare subcutanată.

Generalități

[0151] Practica conform prezentei invenții va folosi, dacă nu se indică altfel, metode convenționale de chimie, biochimie, biologie moleculară, imunologie și farmacologie, în cadrul domeniului de competență al specialiștilor în domeniu. Asemenea tehnici sunt explicate complet în literatură. Vezi, de exemplu, referințele [58] și [59–65], etc.

[0152] Termenul „cuprinzând” cuprinde „incluzând” precum și „constând”, de exemplu o compoziție „cuprinzând” X poate consta exclusiv din X sau poate include ceva suplimentar, de exemplu X + Y.

[0153] Termenul „circa” în raport cu o valoare numerică x este opțional și înseamnă, de exemplu, $x \pm 10\%$.

[0154] Termenul „substanțial” nu exclude „complet”, de exemplu o compoziție care este „substanțial lipsită” de Y poate fi complet lipsită de Y. Dacă este necesar, termenul „substanțial” poate fi omis din definiția conform invenției.

[0155] Referințele la o identitate procentuală de secvență între două secvențe de nucleotide înseamnă că, atunci când sunt aliniate, procentul de nucleotide este același în compararea celor două secvențe. Această aliniere și omologia procentuală sau identitatea secvenței pot fi determinate utilizând programe software cunoscute în domeniu, de exemplu cele descrise în secțiunea 7.7.18 din ref. [66]. O aliniere preferată este determinată de algoritmul de căutare de omologie Smith-Waterman utilizând o căutare a golului afin cu o penalizare de deschidere a golului de 12 și o penalizare de extindere a golului de 2, matrice BLOSUM 62. Algoritmul de căutare a omologiei Smith-Waterman este dezvăluit în ref. [67].

[0156] Dacă nu se declară în mod specific, un procedeu sau o metodă cuprinzând numeroase etape poate cuprinde etape suplimentare la începutul sau la sfârșitul metodei sau poate cuprinde etape suplimentare intercalate. De asemenea, etapele pot fi combinate, omise sau executate într-o ordine alternativă, dacă este cazul.

[0157] Sunt descrise aici diferite realizări ale invenției. Se va avea în vedere că caracteristicile specificate în fiecare realizare pot fi combinate cu alte caracteristici specificate, pentru a furniza alte realizări. În particular, realizările evidențiate aici ca fiind potrivite, tipice sau preferate pot fi combinate una cu cealaltă (cu excepția cazului în care acestea se exclud reciproc).

MODURI DE REALIZARE A INVENȚIEI

Exemplul 1 - Eficacitatea inoculului bacterian într-un model de uveită la șoareci

[0158] Acest studiu a utilizat un model la șoarece de uveită indusă de proteină care se leagă la interfotoreceptor retinoid (IRBP) pentru a testa efectele administrării bacteriilor

asupra uveitei. Uveita este o afecțiune care pune în pericol vederea, care rezultă din intrainflamație oculară și distrugere a țesutului retinal. Această boală poate fi studiată la rozătoare într-un model de uveoretinită autoimună experimentală (EAU) [68]. EAU este o tulburare specifică organului în care celule Th1/Th17 sunt direcționate spre antigeni retinali și produc citokine care activează celulele mononucleare rezidente și celulele care se infiltrează, conducând la distrugere a țesutului. EAU poate fi indusă la șoareci prin provocare cu antigeni retinali incluzând peptidă proteică care se leagă la interfotoreceptor retinoid (IRBPp). Debutul bolii are loc în mod normal din zilele 8-9 și atinge maximul după zilele 14-15. Semnele de boală clinică pot fi monitorizate utilizând imagistică de fundal endoscopică topică (TEFI).

Tulpină

MRX050: *Eubacterium contortum*.

[0159] Tulpina utilizată în acest exemplu a fost depozitată ca NCIMB 42689.

[0160] Bioterapeutică a fost furnizată în glicerol stoc. Mediu de creștere microbiologică (YCFA) a fost utilizat pentru cultura agentului.

Șoareci

[0161] Șoarecii au fost tulpină C57BL/6 și au avut vârsta de peste 6 săptămâni la începutul studiului. 72 șoareci au fost utilizați (+ 36 animale satelite). Animalele bolnave au fost excluse din studiu. Animalele au fost găzduite în condiții specifice fără patogeni (spf), într-o cameră de păstrare monitorizată termostatic ($22 \pm 4^\circ\text{C}$). Animalele au fost lăsate să se aclimatizeze în condiții standard de găzduire a animalelor pentru un minim de o săptămână înainte de utilizare. Statusul de sănătate al animalelor a fost monitorizat pe această perioadă și adecvarea fiecărui animal pentru utilizare experimentală a fost evaluată înainte de începutul studiului. Șoarecii au fost adăpostiți în grupuri de până la 10 animale per cușcă pe durata studiului. Dietă pelet iradiată (dietă de Laborator, dietă pentru rozător EU 22%, 5LF5) și apă au fost disponibile ad libitum pe perioada de aclimatizare și perioada studiului. Este improbabil ca orice constituent din dietă sau apă să fi interferat cu studiul.

Schemă experimentală

[0162] Șoareci adulți femele C57BL/6 au fost aleator alocați în grupuri experimentale și lăsați să se aclimatizeze timp de o săptămână. Tratamentele au fost administrate în conformitate cu programul de mai jos. În Ziua 0, animalelor le-a fost administrată o emulsie conținând 200 μg peptidă proteică care se leagă la interfotoreceptor retinoid 1-20 (IRBP pl-20) în adjuvant Freund complet (CFA) suplimentat cu 2,5 mg/ml *Mycobacterium tuberculosis* H37 Ra prin injecție subcutanată. De asemenea în Ziua 0, animalelor le-au fost administrate 1,5 μg toxină de *Bordetella Pertussis* prin injecție intra-peritoneală. Din Ziua 14, animalele sunt cântărite de trei ori pe săptămână. Din Ziua 1 până la sfârșitul experimentului în Ziua 42, animalele sunt monitorizate de două ori pe săptămână pentru semne clinice de uveită utilizând imagistică de fundal endoscopică topică (TEFI).

Program de administrare

Toate grupurile sunt n=12

[0163] Vehicul pentru administrare orală este mediu YCFA.

[0164] Volumul administrat pentru administrare orală de două ori zilnic este 5 ml/kg.

Grup	Tratament	Doză	Cale	Frecvență	Inducere a Bolii
1	Vehicul	5 ml/kg	PO	BID	Ziua 0: IRBP/CFA, SC
2	MRX050	5 ml/kg		Ziua 14- Sfârșit	Ziua 0: PTx, IP
PO: administrare orală, BID: de două ori zilnic, SC: injecție subcutanată, IP: injecție intra peritoneală, IRBP: proteină care se leagă la interfotoreceptor, CFA: adjuvant Freund complet, PTx: toxină Pertussis					

[0165] Un grup de control pozitiv a fost de asemenea testat utilizând tratament cu medicamentul ciclosporină A.

Citiri

[0166] Greutăți corporale. Din Ziua 14, animalele sunt cântărite de trei ori pe săptămână. Animalele cu o pierdere de greutate corporală egală cu sau mai mare decât 15% din greutatea lor corporală inițială (Ziua 0) în două ocazii consecutive sunt ucise.

[0167] Observații clinice nespecifice. Din Ziua 14 până la sfârșitul experimentului, animalele sunt verificate zilnic pentru semne clinice nespecifice incluzând postură anormală (cocoșată), condiție a blănii anormală (piloerecție) și niveluri de activitate anormale (activitate redusă sau crescută).

[0168] Scoruri Clinice: Imagistică a retinei prin imagistică de fundal endoscopică topică (TEFI). Din Ziua 1 până la sfârșitul experimentului, animalele sunt evaluate de două ori pe săptămână pentru semne clinice de uveită. Imagini ale retinelor sunt captate utilizând TEFI pe animale neanesteziate dar imobilizate după dilatarea pupilelor utilizând Tropicamidă 1% apoi Fenilefrină clorhidrat 2,5%. Imaginile retinelor sunt evaluate utilizând următorul sistem. Scorul maxim cumulativ este 20.

Scor	Inflamație Optică	Vase din disc retinal	Infiltrare a țesutului retinal	Deteriorare structurală
1	Minimă	1-4 încrețiri ușoare	1-4 leziuni mici sau 1 leziune liniară	Leziuni retinale sau atrofie care implică 1/4 până la 3/4 din aria retinei
2	Ușoară	>4 încrețiri ușoare sau 1-3 încrețiri moderate	5-10 leziuni mici sau 2-3 leziuni liniare	Atrofie panretinală cu multiple leziuni mici (cicatrici) sau ≤3 leziuni liniare (cicatrici)
3	Moderată	>3 încrețiri moderate	>10 leziuni mici sau >3 leziuni liniare	atrofie panretinală cu >3 leziuni liniare sau leziuni confluențe (cicatrici)
4	Severă	>1 încrețiri severe	Leziuni liniare confluențe	Detașare a retinei cu pliuri
5	Nu este vizibilă (fără sau detașare severă)			

Rezultate

[0169] Rezultatele studiului sunt prezentate în Figurile 1 și 2.

[0170] **Scoruri clinice: Imagistică a retinei prin imagistică de fundal endoscopică topică (TEFI).** Datele scorurilor TEFI măsurate în grupul de control din Ziua 0 până în Ziua 28 au fost analizate prin test Kruskal-Wallis pentru date non-parametrice urmat de post-test Dunn pentru comparații multiple între zilele experimentului.

[0171] Administrarea de IRBP a indus o creștere semnificativă a Scorurilor TEFI măsurate din Ziua 14 ($p < 0,01$) și în Ziua 28 ($p < 0,0001$) când s-au comparat cu Ziua 0 în grupul de control (Figura 1).

[0172] Scorurile TEFI măsurate în grupurile experimentale în Ziua 28 au fost analizate utilizând o ANOVA unifactorială. După cum s-a așteptat, o scădere semnificativă a scorurilor a fost observată în grupul de control pozitiv cu ciclosporină A. A existat de asemenea o scădere semnificativă statistic a scorurilor pentru grupul tratat cu MRX050 ($p < 0,001$), față de controlul negativ (Figura 2).

[0173] **Concluzii.** Scorurile clinice determinate prin TEFI au crescut din Ziua 14, după cum s-a așteptat în acest model de uveită indusă de IRBP. Până în Ziua 28, a fost observată o reducere evidentă și semnificativă statistic a incidenței bolii și a severității bolii în grupul tratat cu MRX050, care a fost comparabilă cu aceea observată pentru grupul de control pozitiv. În particular, aceste date au indicat că tratamentul cu tulpina MRX050 a redus deteriorarea retinei, inflamația discului optic și/sau infiltrarea țesutului retinal de către celule inflamatorii (vezi sistemul de evaluare retinală TEFI de mai sus). Aceste date au indicat că tulpina MRX050 poate fi utilă pentru tratarea sau prevenirea uveitei.

Exemplul 2 – Testarea stabilității

[0174] O compoziție descrisă aici care conține cel puțin o tulpină bacteriană descrisă aici este stocată într-un recipient etanș la temperatura de 25°C sau 4°C și recipientul este plasat într-o atmosferă având 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% sau 95% umiditate relativă. După 1 lună, 2 luni, 3 luni, 6 luni, 1 an, 1,5 ani, 2 ani, 2,5 ani sau 3 ani, trebuie să rămână cel puțin 50%, 60%, 70%, 80% sau 90% din tulpina bacteriană măsurată în unități formatoare de colonii determinate prin protocoale standard.

Secvențe

[0175]

SEQ ID NO:1 (gena *Eubacterium contortum* rARN 16S parțială, tip tulpină DSM 3982T, clona 1 - FR749945)

```

1  gatcctggct caggatgaac gctggcggcg tgcttaacac atgcaagtcg agcgaagcgc
61  ttactttaga ttcttcgga ttgaagagtt ttgcgactga gcggcggacg ggtgagtaac
121 gcgtaggtaa cctgcctcat acaggggat aacagttaga aatgactgct aataccgcat
181 aagaccacgg taccgcatgg tacagtggga aaaactccgg tggtagaga tggaccgcg
241 tctgattagc tagttgtaa ggtaacggct taccaaggcg acgatcagta gccgacctga
301 gaggtgacc gccacattg ggaactgagac acggcccaa ctcctacggg aggcagcagt
361 ggggaatatt gcacaatggg gaaaccctg atgcagcgac gccgcgtgaa ggatgaagta
421 ttccggtatg taaacttcta tcagcaggga agaaaatgac ggtacctgac taagaagccc
481 cggctaacta cgtgccagca gccgcggtaa tacgtagggg gcaagcgta tccggattta
541 ctgggtgtaa agggagcgtg gacggttatg taagtctgat gtgaaaacc ggggtcaac
601 cccgggactg cattggaac tatgtaacta gagtgtcgga gaggtgaagt gaattcctag
661 ttagcgggtg aaatgcgtag atattaggag gaacaccagt ggcaaggcg gcttactgga
721 cgatgactga cgttgaggct cgaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag
781 tccacgccgt aaacgatgaa tactagggtg cgggtggcaa agccattcgg tgccgcagca
841 aacgcaataa gtattccacc tggggagtac gttcgcaaga atgaaactca aaggaattga
901 cggggacccg cacaagcggg ggagcatgtg gtttaattcg aagcaacgcg aagaacctta
961 cctgctcttg acatccccct gaccggcgtg taatgggtgc ttctcttcgg gacaggggag
1021 acaggtggtg catggttgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgaac
1081 gagcgcaacc cttatcttta gtagccagcg gtttgcccg gactctaga gagactgcca
1141 ggataacct ggaggaagg ggggatgacg tcaaatcatc atgccctta tgagcagggc
1201 tacacacgtg ctacaatggc gtaacaaaag ggaggcgaag ccgtgagggt gagcaaacc
1261 caaaaataac gtctcagttc ggattgtagt ctgcaactcg actacatgaa gctggaatcg
1321 ctagtaatcg cgaatcagaa tgtcgcgggt aatacgttcc cgggtcttgt acacaccgcc
1381 cgtcacacca tgggagttgg taacggccga agtcagtgc ccaaccgcaa ggaggagct
1441 gccgaagggt ggaccgataa ctgggtgaa gtcgtaacaa ggtagccgta tcggaagggt
1501 cggctggatc acctccttcc t

```

SEQ NO:2 (gena rARN 16S *Eubacterium contortum* parțială, tip tulpină DSM 3982T, clona 2 - FR749946)

1 tttgatcctg gctcaggatg aacgctggcg acgtgcttaa cacatgcaag tcgagcggaag
 61 cactttactt tgattttcttc ggaatgaaag gttttgtgac tgagcggcgg acgggtgagtg
 121 aacgcgtggg taacctgcct catacagggg gataacagtt agaaatgact gctaataccg
 181 cataagacca cagtaccgca tggtagctg ggaaaaaactc cgggtggtatg agatggaccc
 241 gcgtctgatt agctagttag taaggtaacg gcttaccgaag gcgacgatca gtagccgacc
 301 tgagaggggtg accggccaca ttgggactga gacacggccc aaactcctac gggaggcagc
 361 agtggggaat attgcacaat gggggaaacc ctgatgcagc gacgccgcgt gaaggatgaa
 421 gtatttcggt atgtaaactt ctatcagcag ggaagaaaat gacggtacct gactaagaag
 481 ccccggtctaa ctacgtgccca gcagccgcgg taatacgtag ggggcaagcg ttatccggat
 541 ttactgggtg taaagggagc gtagacgggt atgtaagtct gatgtgaaaa cccggggctc
 601 aaccccgga ctgcattgga aactatgtaa ctagagtgtc ggagaggtaa gtggaattcc
 661 tagtgtagcg gtgaaatgcg tagatattag gaggaacacc agtggcgaag gcggcttact
 721 ggacgatgac tgacgttgag gctcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg
 781 tagtccacgc cgtaaacgat gaatactagg tgcgggtgg caaagccatt cgggtccgca
 841 gcaaacgcaa taagtattcc acctggggag tacgttcgca agaataaac tcaaaggaat
 901 tgacggggac ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac gcgaagaacc
 961 ttacctgctc ttgacatccc cctgaccggc gtgtaatggt gcctttcctt cgggacaggg
 1021 gagacaggtg gtgcatggtt gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccg
 1081 aacgagcgca acccttatct ttagtagcca gcggtttggc cgggcactct agagagactg
 1141 ccagggataa cctggaggaa ggtgggtagt acgtcaaata atcatgcccc ttatgagcag
 1201 ggctacacac gtgctacaat ggcgtaaaaca aaggagggcg aagccgtgag gtggagcaaa
 1261 tcccaaaaat aacgtctcag ttcggattgt agtctgcaac tcgactacat gaagctggaa
 1321 tcgctagtaa tcgcgaatca gaatgtcgcg gtgaatacgt tcccgggtct tgtacacacc
 1381 gcccgtcaca ccatgggagt tggtaacgcc cgaagtcagt gaccaaccg caaggaggga
 1441 gctgccgagg gtgggaccga taactggggt gaagtctgaa caaggtagcc gtatcggaag
 1501 gtgcggctgg atcacctcct ttct

SEQ NO:3 (*Eubacterium contortum* 16S ribosomal ARN ATCC 25540 - L34615)

1 nttttaacga gagtttgatc ctggctcagg atnaacgctg gcggcgtgct taacacatgc
 61 aagtcgagcg aagcrcttta cttwgatttc ttcggawtga arggttttgy gactgagcgg
 121 cggacgggtg agtaacgcgt gggtaacctg cctcatacag ggggataaca gttagaatg
 181 actgctaata ccgcataaga ccacrgtacc gcatggtaca gtggnaaaaa ctccggtggt
 241 atgagatgga cccgcgtctg attagctagt tggtaaggta acggcttactn aaggcgacga
 301 tcagtagccg acctgagagg gtgaccggcc acattgggac tgagacacgg ccnnaactcc
 361 tacgggaggg agcagtgggg aatattgcac aatgggggaa accctgatgc agcgacgccg
 421 cgtgaaggat gaagtatttc ggtatgtaaa cttctatcag cagggaagaa aatgacggta
 481 cctgactaag aagccccggc taactacgtg ccagcagccn cggtaatacag taggggggna
 541 gcgttatccg gatttactgg gtgtaaaggg agcgtagacg gttatgtaag tctgatgtga
 601 aaacccgggg ctcaacccn nnnctgcatt ggaaactatg taactagagt gtcggagagg
 661 taagtggaaat tcctagtgtg gcggtgaaat gcgtagatat taggaggaac accagtggcg
 721 aaggcggtct actggacgat gactgacgtt gaggtcgaag agcgtgggga gcaaacagga
 781 ttagataccc tggtagtcca cgccgtaaac gatgaatact aggtgtcggg tggcaaagcc
 841 attcgggtgc gcagcaaacg caataagtat tccacctggg gactacgttc gcaagaatga
 901 aactcaaagg aattgacggg naccngcaca agcgtgggag catgtggttt aattcgaann
 961 aacgcgaaga accttacctg ctcttgacat cccctgacc ggcgtgtaat ggtgccnttc
 1021 ctccgggaca gggngacag gtggtgcatg gttgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg
 1081 ggttaagtcc cnaacgagc gcaaccctta tcttagtag ccagcggttt aggcgggna
 1141 ctctagagag actgccaggn ataacctgga ggaagggtgg gatgacgnnn aatcatcatg
 1201 ccccttatga gcaggntac acacgtgcta caatggcgta aacaaaggga ggcgaagccg
 1261 ygaggtggag caaatcccaa aaataacgtc tcagttcgga ttgtagtctg caactcgact
 1321 acatgaagct ggaatcgcta gtaatcgca atcagaatgt cgcgggtgaat acgttccnn
 1381 gtcttgtaga caccgnccgt cacaccatgg gagttggtaa cggccgaagt cagtgaacca
 1441 accgcaagga gggagctgcc gaaggtggga ccgataactg ggg

SEQ NO:4 (secvență consens rARN 16S pentru tulpina *Eubacterium contortum* MRX050)

TGCAGTCGAGCGAAGCAGCTTTACTTAGATTTCTTCGGATTGAAAGAGTTTTGCGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGT
AACCGTGGGTAACTGCCTCATACAGGGGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGACCACGGTACC
GCATGGTACAGTGGGAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCTCTGATTAGCTGGTTGGTAAGGTAACGGCTT
ACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACG
GGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTGATGCAGCGACCCGCGTGAAGGATGAAGTATTTTCG
GTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTTATGTAAAGTCTGA
TGTGAAAACCCGGGGCTCAACCCCGGGACTGCATTGGAACTATGTAAGTAGAGTGTCGGAGAGGTAAGTGGAATTC
CTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGATGACTGACGT
TGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGT
CGGGTGGCAAAGCCATTTCGGTGCCGACGAAACGCAATAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTTCGCAAGAATGAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTG
CTCTTGACATCCCCCTGACCGGCGCGTAATGGTGCCTTTCTTCGGGACAGGGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTG
TCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATCTTTAGTAGCCAGCGGTATGGCC
GGGCACTCTAGAGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAGC
AGGGCTACACACGTGTACAATGGCGTAAACAAGGGAGGCGAAGCCGCGAGGTGGAGCAAATCCCCAAAATAACGT
CTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGT
GAATACGTTCCCGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCCAACC
GCAAGGAGGGAGCTGCCGAAG

REFERINȚE

[0176]

- [1] Spor et al. (2011) *Nat Rev Microbiol.* 9(4):279-90.
- [2] Eckburg et al. (2005) *Science.* 10;308(5728):1635-8.
- [3] Macpherson et al. (2001) *Microbes Infect.* 3(12):1021-35
- [4] Macpherson et al. (2002) *Cell Mol Life Sci.* 59(12):2088-96.
- [5] Mazmanian et al. (2005) *Cell* 15;122(1):107-18.
- [6] Frank et al. (2007) *PNAS* 104(34):13780-5.
- [7] Scanlan et al. (2006) *J Clin Microbiol.* 44(11):3980-8.
- [8] Kang et al. (2010) *Inflamm Bowel Dis.* 16(12):2034-42.
- [9] Machiels et al. (2013) *Gut.* 63(8):1275-83.
- [10] WO 2013/050792
- [11] WO 03/046580
- [12] WO 2013/008039
- [13] WO 2014/167338
- [14] Goldin și Gorbach (2008) *Clin Infect Dis.* 46 Suppl 2:S96-100.
- [15] Azad et al. (2013) *BMJ.* 347:f6471.
- [16] Severijnen, A. J. et al., *Infection and Immunity*, 1990, vol. 58, No. 2, 523-528
- [17] Holdeman et al. (1971) *Int J Syst Evol Microbiol.* 21: 304-306
- [18] Masco et al. (2003) *Systematic and Applied Microbiology*, 26:557-563.
- [19] Srůtková et al. (2011) *J. Microbiol. Methods*, 87(1):10-6.
- [20] Ye et al. (2015) *PLoS One.* 10(1):e0117704.
- [21] Fabro et al. (2015) *Immunobiology.* 220(1):124-35.
- [22] Yin et al. (2014) *Immunogenetics.* 66(3):215-8.
- [23] Cheluvappa et al. (2014) *Clin Exp Immunol.* 175(2):316-22.
- [24] Schieck et al. (2014) *J Allergy Clin Immunol.* 133(3):888-91.
- [25] Balato et al. (2014) *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 28(8):1016-24.
- [26] Monteleone et al. (2011) *BMC Medicine.* 2011, 9:122.
- [27] Zhang (2015) *Inflammation.* Aug 23.

- [28] Sun et al. (2015) *Cytokine*. 74(1):76-80.
- [29] Mucientes et al. (2015) *Br J Ophthalmol*. 99(4):566-70.
- [30] Jawad et al. (2013) *Ocul Immunol Inflamm*. 21(6):434-9.
- [31] Maya et al. (2014) *J. Ophthalmology*. 310329
- [32] Chi et al. (2007) *J. Allergy and Clinical Immunology*. 119(5): 1218-1224.
- [33] Chi et al. (2008) *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 49(7): 3058-3064.
- [34] Luger și Caspi (2008) *Semin. Immunopathol*. 30(2): 134-143.
- [35] Numasaki et al. (2003) *Blood*. 101:2620-2627.
- [36] Zhang et al. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 374: 533-537.
- [37] Karin (2006) *Nature*. 441: 431-436.
- [38] Faghih et al. (2013). *Iranian Journal of Immunology*. 10(4):193-204.
- [39] Numasaki et al. (2005) *J. Immunol*. 175: 6177-6189
- [40] Hammerich și Tacke (2014) *Clin Exp Gastroenterol*. 7:297-306.
- [41] Fahy (2009) *Proc Am Thorac Soc* 6,256-259
- [42] Miossec și Kolls (2012) *Nat Rev Drug Discov*. 11(10):763-76.
- [43] Yang et al. (2014) *Trends Pharmacol Sci*. 35(10):493-500.
- [44] Koenders et al. (2006) *J. Immunol*. 176:6262-6269.
- [45] Amedei et al. (2012) *Int J Mol Sci*. 13(10):13438-60.
- [46] Shabgah et al. (2014) *Postepy. Dermatol. Alergol*. 31(4):256-61.
- [47] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 9-24.
- [48] *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*, ed. by Day and McLellan, Humana Press.
- [49] Leslie et al. (1995) *Appl. Environ. Microbiol*. 61, 3592-3597.
- [50] Mitropoulou et al. (2013) *J Nutr Metab*. (2013) 716861.
- [51] Kailasapathy et al. (2002) *Curr Issues Intest Microbiol*. 3(2):39-48.
- [52] *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Ediția a doua, (1994), Editată de A Wade și PJ Weller
- [53] *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)
- [54] US 2016/0067188
- [55] *Handbook of Microbiological Media*, Ediția a patra (2010) Ronald Atlas, CRC Press.
- [56] *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry* (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press
- [57] Strobel (2009) *Methods Mol Biol*. 581:247-61.
- [58] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. ediția a 20-a, ISBN: 0683306472.
- [59] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press).
- [60] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
- [61] *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I-IV (D.M. Weir și C.C. Blackwell, ed, 1986, Blackwell Scientific Publications)
- [62] Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, ediția a treia (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [63] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K. S. ed., CRC Press, 1997)
- [64] Ausubel et al. (eds) (2002) *Short protocols in molecular biology*, ediția a cincea (Current Protocols).
- [65] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*, ed. a 2-a (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)

- [66] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement 30
- [67] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489.
- [68] Caspi (2003) Curr Protoc Immunol. Capitol 15:Unitate 15.6.