

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 993 434**

51 Int. Cl.:

A61K 35/00 (2006.01)
A61K 35/744 (2015.01)
A61K 35/747 (2015.01)
A61K 31/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.05.2021 PCT/IB2021/054003**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.11.2021 WO21229433**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2021 E 21729939 (5)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2024 EP 4149490**

54 Título: **Composiciones que comprenden cepas bacterianas y su uso para el tratamiento de enfermedades y lesiones oculares**

30 Prioridad:

12.05.2020 IT 20200010666

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

30.12.2024

73 Titular/es:

**PROBIOTICAL S.P.A. (100.00%)
Via E. Mattei 3
28100 Novara, IT**

72 Inventor/es:

**MOGNA, VERA;
PANE, MARCO;
AMORUSO, ANGELA y
COSTAGLIOLA, CIRO**

74 Agente/Representante:

TORNER LASALLE, Elisabet

ES 2 993 434 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones que comprenden cepas bacterianas y su uso para el tratamiento de enfermedades y lesiones oculares

La presente invención versa sobre mezclas, o composiciones que comprenden dichas mezclas, que comprenden al menos tres cepas bacterianas seleccionadas, así como su uso en medicina y en procedimientos para el tratamiento preventivo y/o curativo de una lesión inflamatoria ocular y/o periocular, preferiblemente en procedimientos para el tratamiento de enfermedades oculares, tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitis, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares y síntomas asociados.

Hasta la fecha, las opciones de tratamiento para enfermedades oculares y lesiones inflamatorias de los anejos oculares oscilan entre procedimientos conservadores no invasivos (higiene de los párpados, compresas calientes, fármacos tópicos, tales como combinaciones de antibióticos, corticoesteroides o corticoesteroides antibióticos) y procedimientos invasivos (inyección intralesional de esteroides, así como incisión quirúrgica y curetaje). Cuando fallan los procedimientos conservadores iniciales, se llevan a cabo procedimientos invasivos. Aunque los procedimientos conservadores ofrecen el índice más bajo de complicación, desafortunadamente a menudo son ineficaces en la resolución total de enfermedades y lesiones inflamatorias de los anejos oculares o son seguidos por una recaída de las mismas. Por el contrario, los procedimientos invasivos tienen la máxima eficacia, aunque tienen una mayor probabilidad de complicaciones (efectos secundarios). De hecho, la inyección intralesional puede complicarse por la penetración ocular de esteroides, la despigmentación local de la piel y la atrofia de la grasa subcutánea, la oclusión vascular retinal y coroidal en casos raros, isquemia del segmento anterior, elevación de la presión intraocular (IOP, por sus siglas en inglés), pérdida visual, mientras que la incisión quirúrgica y el curetaje conllevan riesgos tales como dolor, hemorragia y cicatrices.

Cuando se producen las enfermedades oculares y las lesiones inflamatorias mencionadas anteriormente de los anejos oculares en sujetos pediátricos, y la terapia médica no invasiva no funciona, la cirugía no es deseable para padres, y en niños por debajo de tres años de edad puede surgir un riesgo potencial relacionado con la anestesia general.

Por lo tanto, se percibe la necesidad de poder contar con un tratamiento alternativo a los procedimientos conservadores o invasivos descritos anteriormente, capaz de superar los límites y desventajas aún existentes.

El problema técnico abordado y resuelto por la presente invención reposa en proporcionar una solución eficaz y no invasiva para el tratamiento de una lesión inflamatoria ocular y/o periocular, en particular, de enfermedades oculares, tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitis, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares y de trastornos o síntomas asociados o relacionados con los mismos, en sujetos necesitados, particularmente tanto en sujetos humanos adultos como pediátricos.

Después de una investigación intensa y de la actividad de desarrollo, el solicitante aborda y soluciona el problema técnico mencionado anteriormente proporcionando mezclas y/o composiciones innovadoras (de forma sucinta, mezclas o composiciones de la invención), preferiblemente para uso oral, que comprenden al menos tres cepas bacterianas seleccionadas, preferiblemente cepas bacterianas probióticas, que comprenden o, alternativamente, constan de: una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Streptococcus thermophilus*, preferiblemente *Streptococcus thermophilus* ST10 (DSM 25246), una cepa perteneciente a la especie *Lactococcus lactis*, preferiblemente *Lactococcus lactis* LLC02 (DSM 29536), y una cepa perteneciente a la especie *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, preferiblemente *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 (DSM 16606).

Dichas composiciones de la invención han mostrado propiedades terapéuticas para el tratamiento de enfermedades oculares tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitis, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares también gracias a la combinación y/o al efecto sinérgico de dichas cepas bacterianas seleccionadas.

Este problema técnico, resuelto por la presente invención, no es sugerido por la bibliografía públicamente disponible de manera alguna. De hecho, en ningún caso se ha sugerido que el uso de cepas bacterianas, como se estudia en el presente contexto, podría ser usado eficazmente en el tratamiento de lesiones inflamatorias de los anejos oculares.

Por ejemplo, Del Piano y otros., J. of Clin gastroenterol, vol. 48, nº S1, 1 de enero de 2014, describen la capacidad de la cepa bacteriana *Streptococcus thermophilus* ST10, combinada con goma de tara, para restaurar la barrera intestinal en sujetos sanos. Sin embargo, este documento no describe el uso de esta cepa bacteriana para el tratamiento de inflamaciones oculares, y no describe ni mucho menos el uso de la misma junto con otras cepas bacterianas probióticas.

Bonavina y otros, Acta biomedica, Atenei Parmensis, 10 de julio de 2019, páginas 13-17 sugieren el uso de cepas bacterianas tales como *Lactobacillus plantarum* LP01, *Lactobacillus lactis subspecies cremoris* LLC02, y *Lactobacillus delbrueckii* LDD01 en pacientes sometidos a preparación intestinal (BP, por sus siglas en inglés) para colonoscopia. Sin embargo, este documento no describe en ninguna parte del mismo el tratamiento de la inflamación ocular, ni mucho menos sugiere el uso de cepas como se describe en el presente contexto como resolución de la misma. Por último, Chisari y otros, Current clinical Pharmacology, 2017, 12, 99-105 describen una mezcla que comprende *Saccharomyces boulardii* MUCL 53837 y *Enterococcus faecium* LMG S-28935 para su uso en el tratamiento del

síndrome del ojo seco (DES, por sus siglas en inglés). Sin embargo, este documento no sugiere el uso de cepas como se describe en el presente contexto como una solución eficaz al problema de lesiones inflamatorias de los anejos oculares. Además, las composiciones o mezclas de la presente invención no tienen efectos secundarios significativos y pueden ser administradas a una amplia categoría de sujetos necesitados, incluyendo sujetos adultos, pediátricos (0-3 años o 3-12 años), ancianos, mujeres embarazadas o lactantes.

Por último, las composiciones o mezclas de la presente invención son fáciles de preparar y rentables.

Parece haber un posible enlace entre la disbiosis intestinal y las enfermedades oftálmicas, tales como uveítis, queratoconjuntivitis viral, queratitis, glaucoma, degeneración macular asociada a la edad y retinopatía diabética. Sin embargo, no hay datos de eficacia conocidos relacionados con el uso de cepas bacterianas, preferiblemente cepas probióticas, en el tratamiento de enfermedades oculares tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares ni en niños ni en adultos.

Estos y otros objetos, que serán más claros a partir de la siguiente descripción detallada, son obtenidos por las composiciones y las mezclas de la presente invención debido a las características técnicas reivindicadas en las reivindicaciones adjuntas.

Descripción detallada de la invención

Es objeto de la presente invención una mezcla M (de forma sucinta, una mezcla o mezcla M de la invención) que comprende o, alternativamente, consta de:

(a) una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Streptococcus thermophilus*, preferiblemente la cepa *Streptococcus thermophilus* ST10 depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 25246 (depositada el 19/09/2011 por Probiotical S.p.A.) (de forma sucinta, *S. thermophilus* ST10 DSM 25246);

(b) una cepa perteneciente a la especie *Lactococcus lactis*, preferiblemente *Lactococcus lactis* LLC02 depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 29536 (depositada el 22/10/2014 por Probiotical S.p.A.) (de forma sucinta, *L. lactis* LLC02 DSM 29536);

(c) una cepa perteneciente a la especie *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, preferiblemente la cepa *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 16606 (depositada el 20/07/2004 por Probiotical S.p.A.) (de forma sucinta, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606); y opcionalmente, una sustancia vehicular tal como, por ejemplo, una maltodextrina y/o inulina.

En una realización, la mezcla M de la presente invención comprende o, alternativamente, consta de las siguientes tres cepas bacterianas:

(a) *S. thermophilus* ST10 DSM 25246; y

(b) *L. lactis* LLC02 DSM 29536; y

(c) *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606.

Es objeto de la presente invención una composición (de forma sucinta, composición de la invención) que comprende:

(i) dicha mezcla M de la invención que comprende o, alternativamente, consta de al menos tres cepas bacterianas probióticas:

(a) una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Streptococcus thermophilus*, identificada como la cepa *Streptococcus thermophilus* ST10 DSM 25246;

(b) una cepa perteneciente a la especie *Lactococcus lactis*, identificada como *L. lactis* LLC02 DSM 29536;

(c) una cepa perteneciente a la especie *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, identificada como la cepa *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606; y

(ii) al menos un aditivo y/o excipiente aceptable de grado farmacéutico o alimentario.

En una realización, la composición de la invención comprende:

(i) una mezcla M según la presente invención que comprende o, alternativamente, consta de al menos tres cepas bacterianas, preferiblemente cepas bacterianas probióticas:

(a) *S. thermophilus* ST10 DSM 25246; y

(b) *L. lactis* LLC02 DSM 29536; y

(c) *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606; y

(ii) al menos un aditivo y/o excipiente de grado farmacéutico o alimentario, por ejemplo maltodextrina.

5 Aparte de al menos tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo (I) mezcla de *S. thermophilus* ST10 DSM 25246, *L. lactis* LLC02 DSM 29536 y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606), y, opcionalmente, al menos un ingrediente activo adicional seleccionado del grupo (III) descrito en lo que sigue, la mezcla M de la composición de la invención puede comprender, además, al menos un prebiótico, preferiblemente seleccionado del grupo (II) constituido por: inulina, fructooligosacárido (FOS), galactooligosacárido (GOS), xilooligosacárido (XOS), goma guar, y una mezcla de los mismos.

10 Aparte de al menos tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo (I) mezcla de *S. thermophilus* ST10 DSM 25246, *L. lactis* LLC02 DSM 29536 y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606), y, opcionalmente, al menos un prebiótico seleccionado del grupo (II) y/o un ingrediente activo adicional seleccionado del grupo (III) descrito en lo que sigue, la mezcla M contenida en la composición de la invención puede comprender, además, al menos una o más cepas bacterianas probióticas adicionales o derivados de las mismas, preferiblemente una o más cepas adicionales pertenecientes al género *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* o *Staphylococcus*.

15 Aparte de al menos tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo (I) mezcla de *S. thermophilus* ST10 DSM 25246, *L. lactis* LLC02 DSM 29536 y *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606), y, opcionalmente, un prebiótico seleccionado del grupo (II) y/o una cepa bacteriana probiótica adicional, la mezcla M contenida en la composición de la invención puede comprender, además, al menos un ingrediente activo adicional seleccionado del grupo (III) que comprende o, alternativamente, consta de:

- 20 - vitaminas del grupo A, B, C, D y/o E; y/o
- 25 - sustancias vegetales (botánicas) o extractos de las mismas; y/o
- minerales o sales de los mismos; y/o una mezcla de los mismos.

La composición de la invención, que comprende dicha mezcla M según una cualquiera de las realizaciones de la presente invención, comprende, además, al menos un aditivo y/o excipiente aceptable de grado farmacéutico o alimentario, que es una sustancia desprovista de actividad terapéutica adecuada para uso farmacéutico o alimentario. En el contexto de la presente invención, los aditivos y/o excipientes aceptables para uso farmacéutico o alimentario comprenden todas las sustancias auxiliares conocidas por el experto en la técnica para la preparación de composiciones en forma sólida, semisólida o líquida, tales como, por ejemplo, diluyentes, disolventes (incluyendo agua, glicerina, alcohol etílico), solubilizantes, acidulantes, espesantes, edulcorantes, agentes potenciadores del sabor, agentes colorantes, lubricantes, tensioactivos, conservantes, estabilizantes, tampones de estabilización del pH y mezclas de los mismos.

30 Todas las cepas bacterianas descritas en la presente invención fueron depositadas según las disposiciones conformes al tratado de Budapest. La parte depositante de las cepas bacterianas descritas y/o reivindicadas en la presente solicitud de patente y el propietario de la misma expresan, desde el principio, su consentimiento a hacer disponible todas las cepas mencionadas anteriormente durante toda la vigencia de la patente.

40 De forma ventajosa, dichas cepas bacterianas comprendidas en la composición de la invención (cepas (a)-(g)) son cepas bacterianas viables (probióticas). Alternativamente, dichas cepas bacterianas de la invención pueden ser un derivado de la cepa viable, definida en la presente invención.

45 "Probióticos" (por ejemplo, cepas bacterianas) son microorganismos vivos y viables que, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del anfitrión (definición FAO/WHO, 2002); el término "probiótico" se refiere a microorganismos presentes en alimentos, o añadidos a los mismos, o administrados, por ejemplo, en forma de cápsulas, comprimidos o en otra forma farmacéutica.

50 En el contexto de la presente invención, el término "derivado" de la cepa bacteriana (o "derivado" de la cepa bacteriana viable) se usa para indicar la cepa bacteriana tinalizada o sonicada, los lisados u homogenados de la cepa bacteriana, los extractos o la fracción parietal de la cepa bacteriana (denominados paraprobióticos), los metabolitos o bioproductos metabólicos o exopolisacáridos (EPS) generados por la cepa bacteriana (denominados posbióticos) y/o cualquier otro producto derivado de la cepa bacteriana conocida por la persona experta en la técnica. Dichos derivados son obtenidos según procedimientos conocidos por la persona experta en la técnica. Preferiblemente, se usa el término "derivado" de la cepa bacteriana para indicar la cepa tinalizada y/u homogeneizada.

55 La composición de la invención, según una cualquiera de las realizaciones descritas, pueden prepararse en forma de una composición farmacéutica (o productos bioterapéuticos vivos), una composición de dispositivo médico (Reg. EU 2017/745), un suplemento dietético, un alimento (o alimento nuevo o alimento para fines médicos especiales), una composición para un suplemento o alimento dietético o, alternativamente, una composición para uso cosmético.

Las composiciones o mezclas M de la presente invención, según una cualquiera de las realizaciones descritas, pueden formularse para uso oral, para inhalación nasal (por ejemplo, pulverización o gotas), para inhalación oral (por ejemplo, pulverización, polvo seco de inhalación), o para uso tópico (por ejemplo, cutáneo u oftálmico), preferiblemente oftálmico tópico. Preferiblemente, las composiciones de la presente invención son para uso oral.

- 5 En el contexto de la presente invención, se usa la expresión "para uso oral" para indicar, por ejemplo, tanto administración oral (o gastroentérica) como administración sublingual (o bucal).

La composición de la presente invención puede formularse para uso oral en forma sólida, por ejemplo, seleccionada entre: comprimidos, comprimidos masticables, comprimidos que se disuelven en la boca, cápsulas, gránulos, copos, polvo, polvo o gránulos solubles (por ejemplo, envasados en bolsitas), polvo y gránulos que se disuelven en la boca (por ejemplo, envasados en bolsitas de tipo tubular que se disuelven en la boca); o, alternativamente, en forma líquida, por ejemplo, seleccionado entre: disoluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, por ejemplo, envasados en ampollas bebibles, líquido que puede ser administrado en forma de pulverización; o, alternativamente, en forma semilíquida, por ejemplo, seleccionado entre: gel blando, gel o crema; preferiblemente, la composición de la invención es para uso oral en forma sólida, más preferiblemente en forma de polvo soluble o soluble en agua (por ejemplo, en agua o un líquido a base de agua tal como leche). La composición de la presente invención puede formularse para uso tópico, preferiblemente uso tópico oftálmico (es decir, región ocular o periocular) en forma de un líquido, por ejemplo, disolución oftálmica; o, alternativamente, en forma semilíquida, por ejemplo, gel o crema oftálmico.

Son objeto de la presente invención mezclas M o composiciones de la invención, según una cualquiera de las realizaciones descritas, que comprenden *S. thermophilus* ST10 DSM 25246, *L. lactis* LLC02 DSM 29536 y *L. delbruecki subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606, para uso como medicamento. Las composiciones o mezclas M de la presente invención, según una cualquiera de las realizaciones descritas, que comprenden al menos una cepa bacteriana *S. thermophilus* ST10 DSM 25246, *L. lactis* LLC02 DSM 29536 y *L. delbruecki subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606, son para uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de una lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular y de síntomas o trastornos asociados con la misma, preferiblemente en el que se selecciona dicha lesión inflamatoria entre orzuelo, meibomitis, blefaritis, dacriolitos, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, lesiones inflamatorias de los anejos oculares.

Se divulga una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Streptococcus thermophilus*, identificada como *Streptococcus thermophilus* ST10 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 25246, para uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de una lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular y de síntomas o trastornos asociados con la misma, preferiblemente en el que se selecciona dicha lesión inflamatoria entre orzuelo, meibomitis, blefaritis, dacriolitos, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, lesiones inflamatorias de los anejos oculares.

Se divulga una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Lactococcus lactis*, identificada como *Lactococcus lactis* LLC02 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 29536, para uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de una lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular y de síntomas o trastornos asociados con la misma, preferiblemente en el que se selecciona dicha lesión inflamatoria entre orzuelo, meibomitis, blefaritis, dacriolitos, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, lesiones inflamatorias de los anejos oculares.

Se divulga una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus*, identificada como *Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus* LDB 01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 16606, para uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de una lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular y de síntomas o trastornos asociados con la misma, preferiblemente en el que se selecciona dicha lesión inflamatoria entre orzuelo, meibomitis, blefaritis, dacriolitos, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, lesiones inflamatorias de los anejos oculares.

De manera ventajosa, las mezclas M que contienen las cepas bacterianas *S. thermophilus* ST10 DSM 25246, *L. lactis* LLC02 DSM 29536 y *L. delbruecki subsp. bulgaricus* LDB 01 DSM 16606, y las composiciones que contienen dichas mezclas M de la presente invención, según una cualquiera de las realizaciones descritas, son para uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades oculares tales como, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares o derivadas de las enfermedades y/o lesiones mencionadas anteriormente, y/o en la reducción, o supresión, del inicio de recaída de las mismas, en un sujeto necesitado mediante administración, preferiblemente a través de la vía oral, una cantidad terapéuticamente eficaz de dichas composiciones o mezclas M a dicho sujeto.

Las composiciones o mezclas M de la presente invención, según una cualquiera de las realizaciones descritas, puede ser para uso como adyuvantes de planteamientos terapéuticos adicionales (por ejemplo, procedimientos no invasivos, tales como higiene de los párpados, compresas calientes, fármacos tópicos, tales como combinaciones de antibióticos, corticosteroides o corticosteroides antibióticos) en el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades oculares tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares y síntomas o trastornos asociados o relacionados con las mismas.

5 En una realización, la mezcla para uso o la composición para uso en el tratamiento de una lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular, preferiblemente enfermedades oculares tales como, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares y síntomas o trastornos asociados o relacionados con las mismas, según una cualquiera de las reivindicaciones de las realizaciones descritas, puede ser administrada junto con un antibiótico oftálmico y/o un antiinflamatorio esteroideo oftálmico; preferiblemente, tobramicina y/o dexametasona y/o fármacos similares conocidos en el mercado.

El microbioma de la superficie ocular otorga funciones potentes inmunoregulatorias y desempeña un papel clave en el mantenimiento fisiológico de ojos saludables y/o la patogenia de enfermedades oculares. De hecho, un cambio o empobrecimiento del microbioma ocular fisiológico puede llevar a enfermedades oftálmicas.

10 Además, es realista dar por sentado un papel para los miARN en diversas enfermedades oculares. En un estudio piloto comparativo prospectivo realizado (parte experimental), el solicitante muestra que la mezcla o composición M de la invención aumenta la eficacia de terapias convencionales no invasivas para inducir una resolución completa de lesiones inflamatorias de los anejos oculares, preferiblemente en lesiones medianas-pequeñas (por ejemplo, un diámetro medio de aproximadamente ≤ 2 mm en adultos y ≤ 2 mm² en sujetos pediátricos). La diferencia significativa en el tiempo requerido para la resolución completa de lesiones inflamatorias de los anejos oculares entre los sujetos a los que se administró o no la composición de la invención, confirma la presencia de un eje intestino-ojo en favor de aquellos a los que se administró. Por los ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácido butírico, pero también ácidos propiónico y acético, producidos por la fermentación de fibras dietéticas mediante cepas bacterianas del intestino adecuadas (por ejemplo, las comprendidas en las mezclas M o composiciones de la invención), tienen una gran actividad inmunomoduladora. Además, la exposición del anfitrión a cepas bacterianas del intestino adecuadas (por ejemplo, las comprendidas en las mezclas M o composiciones de la invención) pueden servir como una señal de activación para linfocitos B en sitios distintos al intestino, tales como tejidos linfoides asociados con los ojos.

25 Las cepas pertenecientes a la especie *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* comprendidas en la mezcla M de la invención son bacterias anaeróbicas gram-positivas capaces de producir no solo ácido láctico, sino también otras sustancias microbianas, tales como peróxido de hidrógeno y bacteriocinas (pequeños péptidos —sintetizados por los ribosomas de algunas bacterias— que muestran una actividad bacteriostática o bactericida en otras cepas microbianas).

30 De manera ventajosa, dicha al menos una cepa bacteriana o cada cepa bacteriana está presente en la mezcla M o composición de la invención, con respecto a una dosis diaria de la composición o mezcla M de la invención, en una concentración comprendida en el intervalo de 10×10^6 UFC/UFA a 10×10^{12} UFC/UFA, preferiblemente de 10×10^8 UFC/UFA a 10×10^{10} UFC/UFA, más preferiblemente en una concentración de aproximadamente 10×10^8 UFC/UFA a 10×10^9 UFC/UFA, (UFC: Unidad formadora de colonias; UFA: Unidad fluorescente activa).

35 Por ejemplo, una dosis diaria de una mezcla o composición de la invención comprende: $\geq 1 \times 10^9$ bacterias vivas de *Streptococcus thermophilus* ST10 (DSM 25246), $\geq 1 \times 10^9$ bacterias vivas de *Lactococcus lactis* LLC02 (DSM 29536), $\geq 1 \times 10^9$ bacterias vivas de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 (DSM 16606), y maltodextrina.

Para evaluar el número de bacterias vivas en las composiciones o mezclas M de la presente invención, dichas composiciones o mezclas M pueden analizarse mediante citometría de flujo, para determinar el valor UFA y/o el procedimiento de recuento en placa, para determinar el valor UFC.

40 Las dosis diarias mencionadas anteriormente pueden ser administradas al sujeto necesitado en una única dosis (una dosis) o en dosis reiteradas, por ejemplo, dos, tres o cuatro dosis diarias.

Por último, se describe un proceso para la preparación de las composiciones o mezclas M de la invención, en el que dicho proceso comprende la etapa de mezclar los componentes de dichas mezclas o composiciones M según los procedimientos conocidos por la persona experta en la técnica.

45 A no ser que se especifique algo diferente, la expresión “composición” o “mezcla” u otra que comprenda un componente en una cantidad “comprendida en un intervalo de x a V” se usa para indicar que dicho componente puede estar presente en la composición u otro en todas las cantidades presentes en dicho intervalo, aunque no se especifique, que comprenda los extremos del intervalo.

50 A no ser que se especifique algo diferente, la indicación de que una composición “comprende” uno o más componentes o sustancias significa que otros componentes o sustancias pueden estar presentes aparte de el o los indicados específicamente.

En el contexto de la presente invención, se usa la expresión “procedimiento de tratamiento” para indicar una intervención en un sujeto necesitado, que comprende la administración de la cepa bacteriana o de una composición de la invención con el objetivo de eliminar, reducir/disminuir o evitar una enfermedad o dolencia y los síntomas o trastornos de la misma.

55 En el contexto de la presente invención, se usa el término “sujetos” de la presente invención para indicar mamíferos (animales y seres humanos), preferiblemente sujetos humanos tanto en edad adulta como pediátrica de

aproximadamente 0 a aproximadamente 3 años y/o de aproximadamente 3 años a aproximadamente 12 años (sujetos pediátricos).

5 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de compuesto activo y/o cepa bacteriana que desencadena la respuesta biológica o médica en un tejido, sistema, mamífero, o ser humano que es buscada y definida por un individuo, investigador, veterinario, médico u otro clínico o profesional de la salud. En el contexto de la presente invención, se usa la expresión "dispositivo médico" con el significado según el decreto legislativo nº 46 de fecha 24 de febrero de 1997, o según el nuevo reglamento de dispositivos médicos (EU) 2017/745 (MDR, por sus siglas en inglés).

En el contexto de la presente invención, se usa la expresión "alimento nuevo" con el significado según el reglamento EC 258 de fecha 1997.

10 Parte experimental

(I) Estudio clínico en adultos

15 El fin del estudio es definir el impacto beneficioso posible de una composición oral de cepas probióticas de la presente invención (de forma sucinta, la composición objeto de análisis) en pacientes que padecen enfermedades oculares tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares.

I.1. Composición objeto de análisis

Una única dosis de la composición objeto de análisis (es decir, la composición según la presente invención) constaba de:

- 20 - $\geq 1 \times 10^9$ células vivas de *Streptococcus thermophilus* ST10 (DSM 25246),
- $\geq 1 \times 10^9$ bacterias vivas de *Lactococcus lactis* LLC02 (DSM 29536),
- $\geq 1 \times 10^9$ bacterias vivas de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 (DSM 16606), y
- 25 - maltodextrina como vehículo.

La composición objeto de análisis fue suministrada por Probiotal S.p.A., Novara, Italia.

30 Los materiales de estudio fueron analizados por Biolab Research S.r.l., Novara, Italia, por medio de citometría de flujo (ISO 19344:2015 IDF 232:2015, resultados $>3 \times 10^9$ UFA) y el procedimiento de recuento en placa (procedimiento de recuento en placa, procedimiento 014-06 de Biolab Research, resultados $>3 \times 10^9$ UFC) para confirmar el número de células diana. Se monitorizó la vida útil para garantizar que se mantiene el número mínimo de células. Además, las bolsitas de la composición de la invención no usadas en el estudio y devueltas fueron sometidas a ensayo para verificar la viabilidad de los microorganismos usando los procedimientos UFA/UFC. Con muy pocas excepciones, la viabilidad superó la dosis mínima requerida en todo el estudio.

35 Se aconsejó a los pacientes que almacenasen la composición del estudio objeto de estudio en una nevera a 2-8 grados centígrados.

I.2. Pacientes y procedimiento

El estudio fue realizado en el departamento de medicina y ciencias de la salud "V. Tiberio" de la universidad de Molise, Campobasso (Italia), de febrero de 2019 a febrero de 2020.

40 Todos los pacientes inscritos en el estudio tenían una o más lesiones de masa del párpado y recibieron un examen oftalmológico completo, incluyendo el tamaño, posición y duración de las lesiones inflamatorias de los anejos oculares antes de su inscripción. Los criterios de inclusión fueron:

- (i) historial de inicio rápido de la masa inflamada dolorosa que hubiera alcanzado una dimensión estacionaria durante más de 2 meses;
- 45 (ii) el aspecto clínico y la ubicación de la lesión.

Los criterios de exclusión fueron:

- i) infección de los párpados;
- 50 ii) duración de la lesión < 1 mes;
- iii) lesión no palpable;

iv) sospecha de malignidad;

5 v) comorbilidad (dermatitis constitucional y seborreica, disfunción hormonal, presencia de enfermedades del intestino irritable, infecciones principalmente relacionadas con *Staphylococcus aureus* y *Propionibacterium acnes*, infección por ácaros *Demodex*, deficiencia de vitamina A, hipertensión arterial, diabetes y embarazo) y hábitos personales (tabaquismo, trastornos alimenticios, etc.).

Se realizó un estudio piloto comparativo prospectivo en 20 pacientes (7 hombres y 13 mujeres, de edad que oscila entre 39-54 años, edad media 48,3 años) aleatoriamente divididos en dos grupos.

10 El primer grupo, Grupo A: 10 pacientes (4 hombres y 6 mujeres) recibieron tratamiento conservador con higiene de párpados, compresión caliente, pomada de dexametasona/tobramicina (de forma sucinta, tratamiento médico) durante al menos 20 días.

El segundo grupo, Grupo B: aparte del tratamiento conservador mencionado anteriormente (tratamiento médico), 10 pacientes (3 hombres y 7 mujeres) recibieron la composición objeto de análisis (punto I.1.) una vez al día hasta 3 meses.

15 Las lesiones se clasificaron según su tamaño (diámetro medio) en tres grupos: pequeño (aproximadamente 2 mm), medio (aproximadamente 2-4 mm), o grande (aproximadamente >4mm).

Cuando el tratamiento conservador (con y sin la composición objeto de análisis) no llegó a resolver la lesión, se usaron procedimientos invasivos, y específicamente inyección intralesional de esteroides en lesiones de tamaño medio e incisión quirúrgica y curetaje para lesiones más grandes.

20 La composición objeto de análisis fue envasada como polvos en bolsitas. Se pidió a los participantes que disolviesen el polvo en agua o leche y se lo bebiesen por la mañana y/o por la tarde.

25 Este estudio se adhirió a los principios de la declaración de Helsinki y obtuvo la aprobación ética del comité técnico científico del departamento de medicina y ciencias de la salud "V. Tiberio" de la universidad de Molise, Campobasso, Italia, y se obtuvo el consentimiento informado escrito de todos los participantes después de una descripción detallada del procedimiento usado y del trabajo.

I.3. Resultados

30 Todos los participantes completaron la prueba. La edad media fue similar en los dos grupos considerados (Grupo A: edad media 47,9 años; Grupo B: edad media 48,6 años; p=no significativo). Ambos grupos tenían características de referencia similares en términos de tamaño, posición y duración de la lesión, con la excepción de sexo; de hecho, se observó mayor prevalencia en el grupo de mujeres (Tabla 1).

35 El tratamiento médico con o sin la composición objeto de análisis solo fue completamente eficaz en lesiones pequeñas (aproximadamente <2 mm). Sin embargo, en este subgrupo, se registró una diferencia significativa en el tiempo requerido para una resolución completa entre el Grupo A (sin la composición objeto de análisis) y el Grupo B (con la composición objeto de análisis), siendo más corto en el segundo (Grupo A: 37,6 × 11,8 días; Grupo B: 23,7 × 9,8 días; p < 0,01, prueba U de Mann Whitney) (Tabla 2).

Las lesiones inflamatorias medias y grandes de los anejos oculares no respondían al tratamiento médico con o sin la composición objeto de análisis durante el periodo de seguimiento (3 meses). En estos pacientes se usaron procedimientos invasivos (es decir, inyección intralesional de esteroides o incisión quirúrgica y curetaje).

40 El tratamiento (tratamiento médico con o sin la composición objeto de análisis) no indujo complicaciones significativas en ambos grupos (Tabla 3). No se observó ningún caso de recaída de la lesión ni en el grupo A ni en el B.

Tabla 1: #=no significativo; n.a.= no aplicable.

Características	Grupo A (n=10)	Grupo B (n=10)	Valor p#
Edad media (años)	47,9 ± 5,2	48,6 ± 6,9	0,3
Sexo (H/M)	4/6	3/7	0,2
Lateralidad (individual/bilateral)	5/8	4/9	0,8
Tamaño (mm)			
Pequeño (≤2 mm)	4	3	n.a.
Medio (2-4 mm)	4	5	n.a.
Grande (>4 mm)	2	2	n.a.
Recaída	0	0	n.a.

Tabla 2: Tiempo = tiempo de resolución (días); n.a.= no aplicable; se realizaron *inyección intralesional o **incisión y curetaje después de tres meses del seguimiento

Tamaño de la lesión (mm)	Grupo A (n=10)	Tiempo	Grupo B (n=10)	Tiempo	Valor p#
Pequeño (≤ 2 mm)	4	37,6 \pm 11,8	3	23,7 \pm 9,8	0,01
Medio (2-4 mm)	4	*	5	*	n.a.
Grande (>4 mm)	2	**	2	**	n.a.

I.4. Conclusiones

La composición de la invención objeto de estudio es capaz de tratar eficazmente enfermedades oculares tales como lesiones inflamatorias de los anejos oculares, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, sin incluir los efectos secundarios relacionados con el uso de la misma (Tabla 3).

5

Tabla 3

Efectos adversos	Grupo A	Grupo B
Diarrea	0/10	1/10
Estreñimiento	1/10	0/10
Pérdida de apetito	1/10	2/10
Aumento de apetito	2/10	1/10
Irritación de la piel	1/10	0/10
Trastornos oculares	4/10	3/10

(II) Estudio clínico en sujetos pediátricos

El fin de este estudio es definir los impactos beneficiosos posibles de los probióticos en pacientes pediátricos que padecen lesiones inflamatorias de los anejos oculares, enfermedades oculares tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo.

10 II.1. Composición objeto de análisis

Similar al párrafo I.1.

II.2. Pacientes y procedimiento

15 El estudio se llevó a cabo en el departamento de medicina y ciencias de la salud "V. Tiberio" de la universidad de Molise, Campobasso (Italia), de febrero de 2019 a febrero de 2020. Todos los pacientes en edad pediátrica que participaron en el estudio tenían una o más lesiones de masa del párpado y recibieron un examen oftalmológico completo, incluyendo el tamaño, posición y duración de la lesión inflamatoria de los anejos oculares antes de su inscripción. Los criterios de inclusión fueron:

- 20 i) historial de inicio rápido de la masa inflamada dolorosa que ha alcanzado una dimensión estacionaria durante más de 2 meses;
- ii) el aspecto clínico y ubicación de la lesión.

Los criterios de exclusión fueron:

- i) infección de los párpados;
- 25 ii) duración de la lesión < 1 mes;
- iii) lesión no palpable;
- iv) sospecha de malignidad.

30 Se realizó un estudio piloto comparativo prospectivo en 26 pacientes (9 hombres y 17 mujeres, de edad que oscila entre 3-14 años, edad media 8,3 años) divididos aleatoriamente en dos grupos.

El primer grupo, Grupo A: 13 pacientes (4 hombres y 9 mujeres) recibieron tratamiento conservador con higiene de párpados, compresión caliente, pomada de dexametasona/tobramicina (de forma sucinta, tratamiento médico) durante al menos 20 días.

35 El segundo grupo, Grupo B: aparte del tratamiento conservador mencionado anteriormente (tratamiento médico), 13 pacientes (5 hombres y 8 mujeres) recibieron la composición objeto de análisis una vez al día durante 3 meses.

Se obtuvo la aprobación ética del comité técnico científico del departamento de medicina y ciencias de la salud "V. Tiberio" de la universidad de Molise, Campobasso, Italia, y se obtuvo el consentimiento informado escrito de los padres de todos los niños, según la declaración de Helsinki.

40 II.3. Resultados

5 Todos los sujetos pediátricos en el estudio completaron la prueba. La edad media fue similar en los dos grupos considerados (Grupo A: edad media 7,9 años; Grupo B: edad media 8,6 años; p=no significativo). Ambos grupos tenían características de referencia similares en términos de tamaño, posición y duración de la lesión, con la excepción de sexo; de hecho, se observó mayor prevalencia en el grupo de mujeres (Tabla 4). Se observó una diferencia significativa en el tiempo requerido para una resolución completa de la lesión entre los dos Grupos (Grupo A: 51,2 ± 12,4 días; Grupo B: 28,4-10,8 días; p < 0,0001, prueba U de Mann Whitney) (Tabla 4). No se registró ninguna recaída de lesiones inflamatorias en ambos Grupos durante el periodo de seguimiento. El tratamiento no indujo complicaciones significativas en ambos Grupos (Tabla 5).

Tabla 4: *= estadísticamente significativo

Características	Grupo A (n=13)	Grupo B (n=13)	Valor p#
Edad media (años)	7,9 ± 1,2	8,6 ± 1,9	0,3
Sexo (H/M)	4/9	5/8	0,2
Lateralidad (individual/bilateral)	5/8	4/9	0,8
Tamaño medio de la lesión (mm)	1,9 ± 0,3	1,7 ± 0,4	0,9
Tiempo de resolución (días)	51,2 ± 12,4	28,4 ± 10,8	0,0001*
Recaída	0	0	=

10

Tabla 5

Efectos adversos	Grupo A	Grupo B
Diarrea	0/13	1/13
Estreñimiento	1/13	0/13
Pérdida de apetito	2/13	1/13
Aumento de apetito	0/13	2/13
Irritación de la piel	1/13	0/13
Trastornos oculares	3/13	2/13

II.4. Conclusiones

15 El estudio demuestra la eficacia de probióticos en el tratamiento de enfermedades oculares tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares en sujetos pediátricos. En particular, los resultados muestran que la composición objeto de análisis según la invención reduce el tiempo requerido para una resolución completa de la lesión inflamatoria, sin inducir complicaciones significativas, y que no se observó ninguna recaída en los sujetos pediátricos tratados.

REIVINDICACIONES

1. Una mezcla M que comprende o, alternativamente, consta de:
 - 5 - una cepa bacteriana perteneciente a la especie *Streptococcus thermophilus*, identificada como *Streptococcus thermophilus* ST10 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 25246;
 - una cepa perteneciente a la especie *Lactococcus lactis*, identificada como *Lactococcus lactis* LLC02 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 29536;
 - 10 - una cepa perteneciente a la especie *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, identificada como *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* LDB 01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de entrada DSM 16606.
2. La mezcla según la reivindicación 1, en la que dichas cepas bacterianas son viables o son derivadas de las mismas, en la que dichas derivadas son seleccionadas de: cepas bacterianas tinalizadas o sonicadas, lisados u homogenados de cepas bacterianas, extractos o fracciones parietales de cepas bacterianas.
- 15 3. Una composición que comprende
 - la mezcla M según la reivindicación 1 o 2, y
 - al menos un aditivo y/o excipiente de grado alimentario o farmacológico.
- 20 4. La mezcla según la reivindicación 1 o 2, o la composición según la reivindicación 3 para su uso como medicamento.
5. La mezcla según la reivindicación 1 o 2, o la composición según la reivindicación 3 para su uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de una lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular y/o de síntomas o trastornos asociados con dicha lesión inflamatoria o derivados de la misma, en un sujeto necesitado.
- 25 6. La mezcla o la composición para su uso según la reivindicación 5, en la que dicha lesión inflamatoria de la región ocular y/o periocular es seleccionada entre orzuelo, meibomitis, blefaritis, dacriolitos, ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, lesiones inflamatorias de los anejos oculares.
- 30 7. La mezcla o la composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que dicha mezcla o composición es para su uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades oculares, tales como ojos secos, alergia en los párpados, conjuntivitis, blefaritis, meibomitis, dacriolitos, orzuelo, lesiones inflamatorias de los anejos oculares y/o síntomas o trastornos asociados con los mismos o derivados de los mismos, y/o para su uso en un procedimiento para el tratamiento preventivo y/o curativo de una reducción o supresión del inicio de recaídas de los mismos, en un sujeto necesitado.
- 35 8. La mezcla o la composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7, en la que la mezcla o composición es administrada a través de la ruta oral o a través de la ruta tópica oftálmica; preferiblemente a través de la ruta oral; más preferiblemente a través de la ruta oral en forma sólida o líquida.
9. La mezcla o la composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, en la que la mezcla o composición es administrada en combinación con un antibiótico oftálmico y/o un antiinflamatorio esteroideo oftálmico; preferiblemente tobramicina y/o dexametasona.
- 40 10. La mezcla o la composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, en la que dichos sujetos son sujetos adultos o sujetos pediátricos.