República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(21) BR 112020023933-0 A2**

**(22) Data do Depósito:** 24/05/2019

**(43) Data da Publicação Nacional:** 27/04/2021

**(54) Título:** COMPOSIÇÕES BACTERIANAS PROJETADAS E USOS DESTAS

**(51) Int. Cl.:** A23L 33/135; A61K 35/74; A61K 35/741; A61K 35/742; A61P 1/00; (...).

**(30) Prioridade Unionista:** 24/05/2018 US 62/676,236.

**(71) Depositante(es):** SERES THERAPEUTICS, INC..

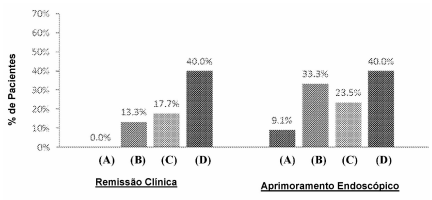
**(72) Inventor(es):** ASUNCION MARTINEZ; EDWARD J. O'BRIEN; SHERI LYNN SIMMONS; MATTHEW R. HENN; CHRISTOPHER B. FORD; DIVYA BALASUBRAMANIAN; AMBAR PIÑA; LIYANG DIAO; MEGHAN CHAFEE; MARIN VULIC; MADHUMITHA NANDAKUMAR; SUMON DATTA; LATTA JAYARAMAN; DAVID COOK.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2019034069 de 24/05/2019

**(87) Publicação PCT:** WO 2019/227085 de 28/11/2019

**(85) Data da Fase Nacional:** 24/11/2020

**(57) Resumo:** São fornecidas aqui composições bacterianas que são úteis para tratar e prevenir complicações e efeitos colaterais associados a uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose de um trato gastrointestinal. As composições bacterianas aqui divulgadas são projetadas para exibir uma ou mais características funcionais que são úteis para o tratamento de tais doenças e distúrbios.



# COMPOSIÇÕES BACTERIANAS PROJETADAS E USOS DESTAS

REFERÊNCIA À LISTAGEM DE SEQUÊNCIA ENVIADA ELETRONICAMENTE VIA EFS-WEB

**[0001]** O conteúdo da listagem de sequência enviada eletronicamente em arquivo de texto ASCII (Nome: 4268.016PC01_SequenceListing_ST25.txt; Tamanho: 836.765 bytes; e Data de Criação: 24 de maio de 2019) depositado neste relatório descritivo é incorporado por referência em sua totalidade.

CAMPO DA DIVULGAÇÃO

**[0002]** A presente divulgação refere-se a composições bacterianas projetadas para ter certos recursos ou características funcionais que são úteis para o tratamento e/ou prevenção de uma variedade de doenças e distúrbios, tais como aqueles associados a disbiose do microbioma gastrointestinal (por exemplo, doença inflamatória intestinal (IBD), por exemplo, colite ulcerosa e certos tipos de câncer).

FUNDAMENTOS DA DIVULGAÇÃO

**[0003]** Uma microbiota intestinal saudável é essencial para o bem-estar geral de um indivíduo. Consequentemente, a disbiose da microbiota intestinal tem sido implicada na patogênese de muitas doenças e distúrbios, como doença inflamatória intestinal (por exemplo, colite), síndrome do intestino irritável, doença celíaca, alergia, asma, síndrome metabólica, doença cardiovascular e obesidade. Carding, S. *et al.*, *Micro Ecol Health Dis* 26 (2015).

**[0004]** Os métodos de tratamento de uma condição relacionada à disbiose incluem o transplante de microbioma fecal (FMT), que pode fornecer microrganismos ao trato gastrointestinal (GI). No entanto, o transplante fecal apresenta uma série de questões, incluindo aquelas relacionadas à segurança e métodos de dsitribuição, como métodos nasoduodenais, transcolonoscópicos ou baseados em enema que geralmente requerem procedimentos clínicos e podem introduzir eventos adversos. Os tratamentos que usam FMT têm uma probabilidade de serem inerentemente inconsistentes devido à variabilidade entre os indivíduos que doam as fezes para transplante. Os métodos de FMT também apresentam um risco de infecção por organismos patogênicos, incluindo vírus, bactérias, fungos e

protistas no material de origem. Além disso, pode haver problemas relacionados à estabilidade e armazenamento das fezes doadas, por exemplo, relacionados à sobrevivência de espécies bacterianas. Alguns tratamentos que usam bactérias fecais distribuídas em cápsulas exigem que os pacientes tomem um grande número de cápsulas, o que pode ser difícil para pessoas com doenças gastrointestinais e pode reduzir a adesão ao tratamento completo.

**[0005]** Por conseguinte, há uma necessidade de composições que distribuam um produto consistente contendo bactérias cultivadas que são de complexidade suficiente e que podem exibir recursos funcionais importantes que são úteis para o tratamento de uma disbiose ou condição relacionada à disbiose.

SUMÁRIO DA DIVULGAÇÃO

**[0006]** É fornecida neste documento uma composição que compreende uma primeira população bacteriana purificada e uma segunda população bacteriana purificada, em que a primeira população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias selecionadas que possuem uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 210 ou SEQ ID NO: 106, e em que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de

HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular um metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de um esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2) e (xxii) qualquer combinação destes.

**[0007]** Também fornecida neste documento uma composição que compreende uma primeira população bacteriana purificada e uma segunda população bacteriana purificada, em que a primeira população bacteriana compreende uma ou mais bactérias que possuem uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178 ou SEQ ID NO: 137, e em que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma

poliamina e/ou de modular um metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de um esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2) e (xxii) qualquer combinação destes.

**[0008]** Também fornecida neste documento uma composição que compreende uma primeira população bacteriana purificada e uma segunda população bacteriana purificada, em que a primeira população bacteriana compreende uma ou mais bactérias que possuem uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111 ou SEQ ID NO: 103, e em que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular o metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de produzir um esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2) e (xxii) qualquer combinação destes.

**[0009]** Em algumas modalidades, os um ou mais recursos são selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) qualquer combinação destes.

**[0010]** Em algumas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende um enxertador de longo prazo e/ou um enxertador transitório. Em certas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete ou mais enxertadores de longo prazo. Em outras modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende dois, três ou mais enxertadores transitórios. Em certas modalidades, uma combinação da primeira população bacteriana purificada e da segunda população bacteriana purificada compreende três ou mais enxertadores transitórios e/ou sete ou mais enxertadores de longo prazo.

**[0011]** Em algumas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um metabólito de triptofano. Em algumas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido biliar secundário. Em algumas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de ter atividade anti-inflamatória. Em certas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que não são capazes de induzir atividade pró-inflamatória. Em algumas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia curta. Em algumas modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia média. Em algumas

modalidades, a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de inibir a atividade de HDAC.

**[0012]** Também é fornecida neste documento uma composição que compreende uma população bacteriana purificada, em que a composição compreende um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular o metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2) e (xxii) qualquer combinação destes.

**[0013]** Em algumas modalidades, os um ou mais recursos são selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) qualquer combinação destes.

**[0014]** Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada de uma composição divulgada neste documento compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 210 ou SEQ ID NO: 106.

**[0015]** Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO:

170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 203 ou SEQ ID NO: 213.

**[0016]** É fornecida neste documento uma composição que compreende uma população bacteriana purificada, a qual compreende duas ou mais bactérias, em que as duas ou mais bactérias compreendem um enxertador de longo prazo e um enxertador transitório.

**[0017]** Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende ainda uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular o metabolismo de poliaminas do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2) e (xxii) qualquer combinação destes.

**[0018]** Em algumas modalidades, os um ou mais recursos são selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por

um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) qualquer combinação destes.

**[0019]** Em algumas modalidades, uma composição que compreende uma população bacteriana purificada divulgada neste documento compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete ou mais enxertadores de longo prazo. Em certas modalidades, a população bacteriana purificada compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete ou mais enxertadores transitórios. Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende três ou mais enxertadores transitórios e/ou sete ou mais enxertadores de longo prazo.

**[0020]** Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um metabólito de triptofano. Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido biliar secundário. Em certas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de ter atividade anti-inflamatória. Em outras modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que não são capazes de induzir atividade pró-inflamatória. Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia curta. Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia média. Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de inibir a atividade de HDAC.

**[0021]** Em algumas modalidades, o metabólito de triptofano divulgado neste documento compreende indol, 3-metil indol, indol-acrilato ou qualquer combinação destes. Em certas modalidades, o metabólito de triptofano é indol. Em certas modalidades, o metabólito de triptofano é 3-metil indol.

**[0022]** Em algumas modalidades, uma ou mais bactérias capazes de produzir um ácido biliar secundário possuem atividade de 7α-desidroxilase. Em

algumas modalidades, uma ou mais bactérias capazes de produzir um ácido biliar secundário possuem atividade de hidrolase de sal biliar (BSH). Em certas modalidades, a primeira população bacteriana purificada e/ou a segunda população bacteriana purificada de uma composição divulgada neste documento não compreendem uma bactéria com atividade de 7β-hidroxiesteroide desidrogenase (7β-HSDH). Em algumas modalidades, o ácido biliar secundário compreende ácido desoxicólico (DCA), ácido 3α 12-oxo-desoxicólico, ácido 3β 12α-desoxicólico (ácido 3-isodesoxicólico), ácido 7α 3-oxo-quenodesoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxo LCA ou quaisquer combinações destes.

**[0023]** Em algumas modalidades, uma ou mais bactérias capazes de possuir atividade anti-inflamatória compreendem (i) bactérias capazes de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ii) bactérias capazes de inibir a atividade de histona desacetilase (HDAC), (iii) bactérias capazes de inibir a secreção de IL-8 induzida por TNF-α em células epiteliais in vitro, ou (iv) qualquer combinação destas. Em algumas modalidades, uma ou mais bactérias incapazes de induzir atividade pró-inflamatória compreendem (i) bactérias incapazes de induzir a secreção de IL-8 em células epiteliais in vitro e/ou (ii) bactérias incapazes de ativar o receptor do tipo Toll 4 (TLR4) e/ou o receptor do tipo Toll 5 (TLR5) *in vitro*.

**[0024]** Em algumas modalidades, um ácido graxo de cadeia curta divulgado neste documento compreende formato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato ou qualquer combinação destes. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia curta é propionato. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia curta é butirato. Em algumas modalidades, um ácido graxo de cadeia média compreende hexanoato, octanoato, decanoato, dodecanoato ou qualquer combinação destes. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia média é hexanoato ou pentanoato.

**[0025]** Em algumas modalidades, um enxertador de longo prazo que pode ser incluído em uma composição divulgada neste documento possui uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA de um enxertador de longo prazo fornecida na Tabela 5. Em certas modalidades, o enxertador de longo prazo possui uma sequência de 16S

rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181 ou SEQ ID NO: 189.

**[0026]** Em algumas modalidades, um enxertador transitório divulgado neste documento possui uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA de um enxertador transitório fornecida na Tabela 5. Em algumas modalidades, o enxertador transitório possui uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132 ou SEQ ID NO: 175.

**[0027]** É fornecida neste documento uma composição que compreende uma população bacteriana purificada, a qual compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 210 ou SEQ ID NO: 106.

**[0028]** Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada

compreende ainda uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 203 ou SEQ ID NO: 213.

**[0029]** É divulgada neste documento uma composição que compreende uma população purificada de bactérias com sequências de 16S rDNA que são pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idênticas a uma sequência de 16S rDNA selecionada do grupo que consiste em: (1) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 187; (2) SEQ ID NO: 186; (3) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO:

175; (4) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104; (5) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175; (6) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 104; (7) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175; (8) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104; (9) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175; (10) SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211; (11) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 210; (12) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175; (13) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159; (14) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159; (15) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 175; (16) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 175; (17) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 175; (18) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175; (19) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175; (20) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175; (21) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175; (22) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 159; (23) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 159; (24) SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 160,

SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 106; e (25) qualquer combinação destas.

**[0030]** Em algumas modalidades, a população bacteriana purificada compreende ainda sequências de 16S rDNA que são pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idênticas a uma sequência de 16S rDNA selecionada do grupo que consiste em: (1) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123; (2) SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 103; (3) SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 205; (4) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 117; (5) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 134; (6) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 182; (7) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 134; (8) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123; (9) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 134; (10) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ

ID NO: 118, SEQ ID NO: 182; (11) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 134; (12) SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (13) SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (14) SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (15) SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (16) SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (17) SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (18) SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (19) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (20) SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (21) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO 137:, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ

ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163; (22) SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 134; (23) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 134; (24) SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 13; (25) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 163; (26) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182; (27) SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182; (28) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135; (29) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118,SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135; (30) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118,SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163; (31) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118,SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ

ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135; (32) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118,SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134; (33) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181; (34) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181; (35) SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181; e (36) qualquer combinação destes.

**[0031]** Em algumas modalidades, uma composição divulgada neste documento compreende ainda um ou mais polímeros entéricos.

**[0032]** A presente divulgação também fornece uma formulação farmacêutica que compreende qualquer uma das composições bacterianas divulgadas neste documento e um excipiente farmaceuticamente aceitável seu. Em algumas modalidades, o excipiente é glicerol. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é liofilizada. Em ainda outras modalidades, a composição é formulada para distribuição oral.

**[0033]** É fornecido neste documento um método para tratar uma doença

inflamatória em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição divulgada neste documento. Em certas modalidades, a administração da quantidade eficaz da composição melhora um ou mais sinais ou sintomas da doença inflamatória ou mantém uma remissão da doença inflamatória. Em algumas modalidades, a doença inflamatória compreende uma doença inflamatória intestinal. Em certas modalidades, a doença inflamatória intestinal inclui doença de Crohn, doenças gastrointestinais mediadas por autoimunidade, inflamação gastrointestinal ou colite, como colite ulcerativa, colite ulcerosa, colite microscópica, colite colagenosa, colite poliposa, enterocolite necrosante, colite transmural ou qualquer combinação destas.

**[0034]** Também é fornecido neste documento o uso de uma composição divulgada neste documento (por exemplo, composição bacteriana projetada) na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença inflamatória em um sujeito em necessidade. A presente divulgação também fornece uma composição divulgada neste documento para uso em um método para tratar uma doença inflamatória compreendendo a administração da composição ao sujeito.

**[0035]** É fornecido neste documento um método para modular o nível de uma molécula biológica em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição divulgada neste documento. Em certas modalidades, a molécula biológica compreende uma calprotectina fecal, um ácido biliar secundário, um metabólito de triptofano, um ácido graxo de cadeia curta, um ácido graxo de cadeia média, um esfingolipídeo, uma quinurenina ou qualquer combinação destes.

**[0036]** Em algumas modalidades, o nível de calprotectina fecal é reduzido em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0037]** Em certas modalidades, o nível de um ácido biliar secundário é aumentado em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos

cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência. Em algumas modalidades, o ácido biliar secundário compreende ácido desoxicólico (DCA), ácido 3α 12-oxo-desoxicólico, ácido 3β 12$\alpha$-desoxicólico (ácido 3-isodesoxicólico), ácido 7α 3-oxo-quenodesoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxo LCA ou quaisquer combinações destes.

**[0038]** Em algumas modalidades, o nível de um metabólito de triptofano é aumentado em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, em pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência. Em algumas modalidades, o metabólito de triptofano é selecionado do grupo que consiste em indol, 3-metil-indol e combinações destes.

**[0039]** Em algumas modalidades, o nível de um ácido graxo de cadeia curta é aumentado em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia curta compreende formato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato ou qualquer combinação destes.

**[0040]** Em algumas modalidades, a referência é um nível predeterminado ou um nível no sujeito anterior à administração. Em algumas modalidades, a modulação da molécula biológica está associada à remissão de uma doença inflamatória.

**[0041]** Também é fornecido neste documento um método para tratar um câncer em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição da presente divulgação. A presente divulgação fornece ainda o uso de qualquer uma das composições divulgadas neste documento na fabricação de um medicamento para o tratamento de um câncer em um sujeito em necessidade. Também é divulgada uma composição divulgada neste documento para uso em um método de tratamento de um câncer compreendendo

a administração da composição ao sujeito.

**[0042]** É fornecido neste documento um método para inibir o crescimento de um tumor ou reduzir o tamanho de um tumor em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição divulgada neste documento. Também é fornecida uma utilização de uma composição divulgada neste documento 57 na fabricação de um medicamento para inibir o crescimento de um tumor ou reduzir o tamanho de um tumor em um sujeito em necessidade. Também é divulgada neste documento uma composição da presente divulgação para uso em um método de tratamento de um câncer compreendendo a administração da composição ao sujeito.

**[0043]** É fornecido neste documento um método para potencializar uma resposta imunológica em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição divulgada neste documento. Também é fornecido neste documento uma utilização de uma composição da presente divulgação na fabricação de um medicamento para potencializar uma resposta imunológica em um sujeito em necessidade. Também é divulgada neste documento uma composição da presente divulgação para uso em um método para potencializar uma resposta imunológica em um sujeito em necessidade.

**[0044]** Em algumas modalidades, o sujeito tem um câncer.

**[0045]** Em algumas modalidades, os métodos, a utilização ou a composição para utilização compreendem ainda a administração de um agente terapêutico adicional ao sujeito. Em certas modalidades, o agente terapêutico adicional compreende um inibidor de ponto de verificação imunológico. Em algumas modalidades, o inibidor de ponto de verificação imunológico compreende um anticorpo anti-PD-1, um anticorpo anti-PD-L1 ou um anticorpo anti-CTLA-4.

**[0046]** Em algumas modalidades, o câncer inclui câncer de bexiga, câncer de mama, câncer de útero/do colo do útero, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de testículo, câncer de esôfago, câncer gastrointestinal, câncer de pâncreas, câncer colorretal, câncer de cólon, câncer de rim, câncer de cabeça e pescoço, câncer de pulmão, câncer de estômago, câncer de células germinativas, câncer ósseo, câncer de fígado, câncer de tireoide, câncer de pele, neoplasma do sistema

nervoso central, linfoma, leucemia, mieloma, sarcoma, câncer relacionado a vírus ou qualquer combinação destes.

**[0047]** Em algumas modalidades, a administração de uma composição divulgada neste documento a um sujeito resulta em um número aumentado de linfócitos infiltrantes de tumor em um tumor do sujeito. Em algumas modalidades, o número de linfócitos infiltrantes de tumor no tumor é aumentado em pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% ou mais em comparação com uma referência. Em algumas modalidades, a referência compreende o número de linfócitos infiltrantes de tumor em um tumor de um sujeito que não recebeu a composição.

MODALIDADES

**[0048]** Modalidade 1. Uma composição que compreende uma população purificada de bactérias, em que a população purificada de bactérias compreende uma ou mais bactérias da família *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Sutterellaceae*, *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bacteroidaceae*, *Akkermansiaceae* ou *Desulfovibrionaceae*.

**[0049]** Modalidade 2. A composição da Modalidade 1, em que a população purificada de bactérias compreende bactérias de pelo menos duas, três, quatro, cinco, seis, sete ou todas as famílias.

**[0050]** Modalidade 3. Uma composição que compreende uma população purificada de bactérias, em que a população purificada de bactérias compreende uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Gemmiger formicilis, Roseburia hominis, Clostridium bolteae, Parasutterella excrementihominis, Holdemania filiformis, Holdemania massiliensis, Bacteroides ovatus, Akkemansia muciniphila, Clostridium leptum, Bilophila wadsworthia, Dielma fastidiosa, Clostridium symbiosum, Eubacterium siraeum, Agathobaculum desmolans, Agathobaculum butyriciproducens e Bacteroides vulgatus*.

**[0051]** Modalidade 4. A composição da Modalidade 3, em que as uma ou mais bactérias são *Gemmiger formicilis, Roseburia hominis, Clostridium bolteae, Holdemania filiformis, Holdemania massiliensis, Clostridium leptum, Dielma*

*fastidiosa, Clostridium symbiosum, Eubacterium siraeum* ou combinações destas.

**[0052]** Modalidade 5. Uma composição que compreende uma população purificada de bactérias, em que a população purificada de bactérias compreende uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Anaerotruncus colihominis, Blautia producta, Clostridium bolteae, Clostridium disporicum, Clostridium ghonii, Clostridium glycolicum, Clostridium innocuum, Clostridium lactatifermentans, Clostridium viride, Eubacterium* sp. WAL 14571, *Lachnospiraceae bacterium* 3 1 57FA, *Lachnospiraceae bacterium* táxon oral F15, *Lactonifactor longoviformis* e *Ruminococcus lactaris*.

**[0053]** Modalidade 6. Uma composição que compreende uma população purificada de bactérias, em que a população purificada de bactérias compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida nas SEQ ID NOs: 1-14, 16-30, 32-36, 39, 41, 44, 45, 47-51, 59-62, 64-68 e 72-76.

**[0054]** Modalidade 7. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 6, em que a população purificada de bactérias compreende pelo menos duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove ou mais bactérias.

**[0055]** Modalidade 8. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 7, em que uma ou mais bactérias estão associadas à remissão de uma doença inflamatória intestinal.

**[0056]** Modalidade 9. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 8, em que uma ou mais bactérias podem modular o nível de uma molécula biológica, em que a molécula biológica compreende uma calprotectina fecal, um ácido biliar secundário, um metabólito de triptofano, um ácido graxo de cadeia curta, um ácido graxo de cadeia média, um esfingolipídeo, uma quinurenina ou combinações destes.

**[0057]** Modalidade 10. A composição da Modalidade 9, em que o metabólito de triptofano compreende indol, 3-metil-indol, quinurenina, indoleacrilato ou combinações destes.

**[0058]** Modalidade 11. A composição da Modalidade 9 ou 10, em que uma

ou mais bactérias podem modular o nível da molécula biológica in vivo.

**[0059]** Modalidade 12. A composição de qualquer uma das modalidades 9 a 11, em que uma ou mais bactérias podem modular o nível da molécula biológica em um sujeito diagnosticado com colite ulcerosa ou em um modelo animal de colite ulcerosa.

**[0060]** Modalidade 13. A composição da Modalidade 9, em que uma ou mais bactérias podem modular o nível da molécula biológica in vitro.

**[0061]** Modalidade 14. A composição da Modalidade 9, em que uma ou mais bactérias podem modular o nível da molécula biológica em uma cultura ou em um sistema gastrointestinal sintético.

**[0062]** Modalidade 15. A composição da Modalidade 9, em que o nível de uma calprotectina fecal é reduzido em pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90% em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0063]** Modalidade 16. A composição da Modalidade 9, em que o nível de um ácido biliar secundário é aumentado em pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90% em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0064]** Modalidade 17. A composição da Modalidade 16, em que o ácido biliar secundário é selecionado do grupo que consiste em ácido desoxicólico (DCA), ácido 3α 12-oxo-desoxicólico, ácido 3β 12α-desoxicólico (ácido 3-isodesoxicólico), ácido 7α 3-oxo-quenodesoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxo LCA e combinações destes.

**[0065]** Modalidade 18. A composição da Modalidade 9, em que o nível de um metabólito de triptofano é aumentado em pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90% em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0066]** Modalidade 19. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 18, em que uma ou mais bactérias aumentam o número de bactérias formadoras

de esporos em um microbioma de um sujeito.

**[0067]** Modalidade 20. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 19, em que uma ou mais bactérias aumentam o número de bactérias não formadoras de esporos em um microbioma de um sujeito.

**[0068]** Modalidade 21. A composição de qualquer uma das Modalidades 15, 16 e 18, em que a referência é um nível predeterminado ou um nível em um sujeito antes de um tratamento com a composição.

**[0069]** Modalidade 22. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 21, em que uma ou mais bactérias são bactérias formadoras de esporos.

**[0070]** Modalidade 23. A composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 22, em que uma ou mais bactérias são capazes de ser enxertadas no microbioma de um sujeito quando administradas ao sujeito.

**[0071]** Modalidade 24. Uma composição que compreende uma população purificada de bactérias, em que a população purificada de bactérias não inclui uma ou mais bactérias selecionadas dentre *Eubacterium contortum, Clostridium aldenense, Flavonifractor plautii, Ruminococcus gnavus, Clostridium hathewayi, Erysipelatoclostridum ramosum, Clostridium SC174, Blautia SC109, Ruminococcus SC103, Bifidobacterium dentium, Dialister invisus, Prevotella copri, Veillonella atypica, Veillonella dispar, Veillonella parvula* ou *Veillonella ratti*.

**[0072]** Modalidade 25. Uma composição que compreende uma população purificada de bactérias, em que a população purificada de bactérias não inclui uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida nas SEQ ID NOs: 15, 31, 37, 38, 40, 42, 43, 46, 52-58, 63, 69-71 e 83-101.

**[0073]** Modalidade 26. A composição da Modalidade 24 ou 25, em que a população purificada de bactérias não inclui pelo menos duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze ou todas as bactérias excluídas.

**[0074]** Modalidade 27. A composição de qualquer uma das Modalidades 24 a 26, em que uma ou mais bactérias excluídas não estão associadas à remissão de uma doença inflamatória intestinal.

**[0075]** Modalidade 28. Uma composição que compreende uma ou mais bactérias com pelo menos 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 dos seguintes recursos: (i) a capacidade de produzir hexanoato, (ii) a capacidade de produzir valerato, (iii) a capacidade de produzir indol, (iv) a capacidade de produzir 3-metil-indol, (v) a capacidade de induzir células T reguladoras (Tregs) (por exemplo, células CD4+/FoxP3+), (vi) a capacidade de inibir a atividade de HDAC, ou (vii) a capacidade de mostrar eficácia (por exemplo, ter um escore de patologia significativamente inferior em comparação com o controle de uma doença) em um modelo de célula T em agregado.

**[0076]** Modalidade 29. A composição da Modalidade 28, em que uma ou mais bactérias não possuem atividade de 7-alfa desidrogenase.

**[0077]** Modalidade 30. A composição da Modalidade 28 ou 29, em que os recursos estão associados a uma melhora de uma doença inflamatória intestinal.

**[0078]** Modalidade 31. A composição de qualquer uma das Modalidades 8, 27 e 30, em que a doença inflamatória intestinal é colite ulcerosa.

**[0079]** Modalidade 32. Uma formulação farmacêutica que compreende a composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 31 e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

**[0080]** Modalidade 33. A formulação farmacêutica da Modalidade 32, em que o excipiente é glicerol.

**[0081]** Modalidade 34. A formulação farmacêutica da Modalidade 32 ou 33, em que a composição é liofilizada.

**[0082]** Modalidade 35. A formulação farmacêutica de qualquer uma das Modalidades 32 a 34, em que a composição é formulada para distribuição oral.

**[0083]** Modalidade 36. Método de tratamento de uma doença inflamatória intestinal em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 31 ou uma formulação farmacêutica de qualquer uma das Modalidades 32 a 35.

**[0084]** Modalidade 37. O método da Modalidade 36, em que a administração da quantidade eficaz da composição melhora um ou mais sinais ou sintomas da doença inflamatória intestinal ou mantém uma remissão da doença inflamatória intestinal.

**[0085]** Modalidade 38. O método da Modalidade 36 ou 37, em que a doença inflamatória intestinal compreende doença de Crohn, doenças gastrointestinais mediadas por autoimunidade, inflamação gastrointestinal ou colite, como colite ulcerativa, colite ulcerosa, colite microscópica, colite colagenosa, colite poliposa, enterocolite necrosante ou colite transmural.

**[0086]** Modalidade 39. Método de modulação do nível de uma molécula biológica em um sujeito em necessidade compreendendo a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição de qualquer uma das Modalidades 1 a 31 ou de uma formulação farmacêutica de qualquer uma das Modalidades 32 a 35.

**[0087]** Modalidade 40. O método da Modalidade 39, em que a molécula biológica compreende uma calprotectina fecal, um ácido biliar secundário, um metabólito de triptofano, um ácido graxo de cadeia curta, um ácido graxo de cadeia média, um esfingolipídeo, uma quinurenina ou combinações destes.

**[0088]** Modalidade 41. O método da Modalidade 40, em que o nível de uma calprotectina fecal é reduzido em pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0089]** Modalidade 42. O Método da Modalidade 40, em que o nível de um ácido biliar secundário é aumentado em pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0090]** Modalidade 43. A método da Modalidade 42, em que o ácido biliar secundário é selecionado do grupo que consiste em ácido desoxicólico (DCA), ácido 3α 12-oxo-desoxicólico, ácido 3β 12α-desoxicólico (ácido 3-isodesoxicólico), ácido 7α 3-oxo-quenodesoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxo LCA e combinações destes.

**[0091]** Modalidade 44. O Método da Modalidade 40, em que o nível de um metabólito de triptofano é aumentado em pelo menos 10%, pelo menos 20%, pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos

70%, pelo menos 80% ou pelo menos 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

**[0092]** Modalidade 45. O método da Modalidade 44, em que o metabólito de triptofano é selecionado do grupo que consiste em indol, 3-metil-indol e combinações destes.

**[0093]** Modalidade 46. O método de qualquer uma das Modalidades 41, 42 ou 44, em que a referência é um nível predeterminado ou um nível no sujeito anterior à administração.

**[0094]** Modalidade 47. O método de qualquer uma das Modalidades 39 a 46, em que a modulação da molécula biológica está associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal.

**[0095]** Modalidade 48. Um método para identificar se um sujeito é um doador adequado para uma bacterioterapia fecal, que compreende: a) obter uma amostra de microbioma do sujeito; b) determinar a prevalência de uma ou mais bactérias na amostra do microbioma; e c) determinar que o sujeito é um doador adequado se o microbioma compreende uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Gemmiger formicilis, Roseburia hominis, Clostridium bolteae, Parasutterella excrementihominis, Holdemania filiformis, Holdemania massiliensis, Bacteroides ovatus, Akkemansia muciniphila, Clostridium leptum, Bilophila wadsworthia, Dielma fastidiosa, Clostridium symbiosum, Eubacterium siraeum, Agathobaculum desmolans, Agathobaculum butyriciproducens* e *Bacteroides vulgatus*.

**[0096]** Modalidade 49. Um método para identificar se um sujeito é um doador adequado para uma bacterioterapia fecal, que compreende: a) obter uma amostra de microbioma do sujeito; b) determinar a prevalência de uma ou mais bactérias na amostra de microbioma; e c) determinar que o sujeito é um doador adequado se o microbioma compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 85%, pelo menos 90%, pelo menos 95%, pelo menos 96%, pelo menos 97%, pelo menos 98%, pelo menos 99% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida nas SEQ ID NOs: 1-14, 16-30, 32-36, 39, 41, 44, 45, 47-51, 59-62, 64-68 e 72-76.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS/FIGURAS

**[0097]** A FIG. 1 mostra uma comparação da remissão clínica (gráfico à esquerda) e melhora endoscópica (gráfico à direita) 8 semanas após o tratamento inicial em pacientes com colite ulcerosa que receberam um dos seguintes regimes de tratamento: (A) pré-tratamento com placebo/placebo uma vez ao dia; (B) pré-tratamento com placebo/população de esporos purificados derivada de fezes de dadores humanos saudáveis (produto de esporo humano saudável; HHSP) uma vez por semana; (C) pré-tratamento com vancomicina/HHSP uma vez por semana; ou (D) pré-tratamento com vancomicina/HHSP uma vez ao dia. O período de pré-tratamento foi de 6 dias, e o período de tratamento foi de 8 semanas. As porcentagens de pacientes de cada um dos grupos que entraram em remissão clínica (escore Total Modified Mayo (TMM) de ≤2 mais subescore endoscópica de ≤1) ou apresentaram melhora endoscópica (redução no escore endoscópica de ≥1) são mostradas acima das barras respectivas.

**[0098]** As FIGs. 2A a 2C mostram uma comparação do número de espécies de "bactérias de enxerto de alta confiança" associadas a HHSP detectadas nas amostras fecais de pacientes com colite ulcerosa de cada um dos 4 Braços (A, B, C e D). Na FIG. 2A, o número total das espécies relevantes de bactérias que enxertaram foi quantificado em amostras fecais nos dias 0, 3, 7, 10, 14, 56 e 84 após o início do tratamento com placebo ou com um HHSP. Nas FIGs. 2B e 2C, as espécies bacterianas de enxerto foram ainda divididas em espécies de enxerto de longo prazo (enxertadores de longo prazo) (FIG. 2B) ou espécies de enxerto transitórias (enxertadores transitórios) (FIG. 2C). O enxerto foi determinado em relação à população de bactérias presentes na avaliação inicial (*ou seja*, antes do regime de pré-tratamento). Bactérias de enxerto de alta confiança compreendem espécies presentes no produto farmacêutico (*isto é*, HHSP) e que não estão presentes na avaliação inicial pré-tratamento em um paciente individual, mas que foram observadas no paciente em qualquer momento pós-tratamento. Esta é uma medida conservadora de enxerto, pois não inclui o enxerto de uma espécie que está presente como uma cepa única no produto farmacêutico e como uma cepa diferente da mesma espécie no microbioma do paciente na avaliação inicial.

**[0099]** A FIG. 3 mostra uma comparação da mudança na porção formadora

de esporos do microbioma de pacientes com colite ulcerosa dos Braços A, B, C e D em vários momentos após a dose inicial de HHSP. A mudança no microbioma da composição da avaliação inicial é mostrada como uma distância de Jaccard binário entre os pacientes e seu lote de dose correspondente. O Jaccard binário mede a similaridade do componente formador de esporos dos microbiomas do paciente com o HHSP. Um valor positivo indica maior similaridade com HHSP. A linha horizontal indica a composição do componente formador de esporos do microbioma do paciente na avaliação inicial (distância = 0 por definição).

**[0100]** A FIG. 4 mostra uma correlação entre as concentrações de ácidos biliares secundários 7-α-desidroxilados e o resultado clínico. 8 semanas após o tratamento inicial, os pacientes com colite ulcerosa de todos os braços de tratamento foram classificados como em remissão ou em não remissão. Em seguida, as concentrações dos ácidos biliares secundários 7-α-desidroxilados foram medidas.

**[0101]** As FIGs. 5A e 5B mostram os efeitos dos ácidos biliares secundários, do ácido desoxicólico (DCA) e do ácido litocólico (LCA) na produção de TNF-α (FIG. 5A) e IL-10 (FIG. 5B) em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) estimuladas por LPS *in vitro*. Em ambas as FIGs. 5A e 5B, as barras mostradas correspondem a uma concentração do ácido biliar usado (12,5, 25 e 50 μM), com aumento na concentração indo da esquerda para a direita.

**[0102]** As FIGs. 6A, 6B e 6C mostram uma comparação de diferentes níveis de metabólito de triptofano nas amostras fecais de remetentes (Remissão) e não remetentes (Não Remissão) após a administração de HHSP (*ou seja,* Braços B, C e D) 8 semanas após dosagem inicial (*ou seja*, no final do período de tratamento). A FIG. 6A mostra uma comparação do nível de indol. A FIG. 6B mostra uma comparação do nível de 3-metil-indol. A FIG. 6C também mostra uma comparação do nível de 3-metil-indol, mas as amostras de pacientes foram divididas com base na presença de *Ruminococcus bromii* e *Eubacterium siraeum*: (i) nenhuma "(0)", (ii) uma (*ou seja,* uma das duas espécies) "(1)", ou (iii) ambas "(2)".

**[0103]** As FIGs. 7A e 7B mostram uma comparação da capacidade de diferentes metabólitos de triptofano (FIG. 7A) ou sobrenadantes bacterianos (FIG. 7B) para induzir a expressão de cyp1a1 mediada por AhR em relação à β-actina

em organoides do cólon epiteliais. Na FIG. 7A, os metabólitos (ácido 3-indol acético, 3-metil indol, indol, indol-acrilato, ácido 3-indol butírico e ácido indol-propiônico, IPA) foram adicionados em três concentrações diferentes (50, 100 e 200 μM), com concentrações crescentes da direita para a esquerda. Organoides epiteliais não tratados (Untd) foram usados como controle negativo. Na FIG. 7B, sobrenadantes foram coletados de culturas contendo diferentes bactérias (*Clostridium sporogenes* 1, *Clostridium sporogenes* 2, *Peptostreptococcus stomatis*, *Clostridium glycolicum*, *Bacteroides sp.* 4 1 36) e foram fornecidos aos organoides epiteliais em duas concentrações diferentes (concentração final de 5% e 2%), com a barra esquerda correspondendo à maior concentração. Os SCFAs e metabólitos de triptofano presentes em cada sobrenadante (das FIGs. 17 e 18) são indicados. IPA: ácido indol-propiônico; IAcril: Indol-acrilato; 3Mind: 3-metil-indol; I3Carb: indol-3-carbinol; C3: propionato; C4: butirato; C5: valerato; C6: hexanoato; BCFA: ácidos graxos de cadeia ramificada.

**[0104]** A FIG. 8A fornece um diagrama esquemático do ensaio de integridade da barreira epitelial, e a FIG. 8B fornece uma comparação da permeabilidade epitelial após exposição a diferentes concentrações de IFN-γ.

**[0105]** As FIGs. 9A e 9B mostram uma comparação da capacidade de diferentes metabólitos bacterianos (butirato, propionato e IPA) (FIG. 9A) e diferentes espécies bacterianas (FIG. 9B) para restaurar a integridade da barreira na presença de IFN-γ, conforme medido pelo ensaio de integridade da barreira epitelial mostrado na FIG. 8A. Na FIG. 9A, cada um dos metabólitos testados foi adicionado ao ensaio em quatro concentrações diferentes (direita para a esquerda: 0,625 mM, 1,25 mM, 5 mM e 10 mM). Amostras não tratadas (*ou seja,* sem metabólito, sem IFN-γ) foram usadas como um controle negativo. Amostras tratadas com 5 ng/mL de IFN-γ apenas (sem metabólito) foram usadas como controle positivo. A linha horizontal pontilhada representa a permeabilidade do controle negativo. Os valores de permeabilidade abaixo da linha pontilhada indicam proteção de barreira, enquanto os valores acima representam dano de barreira adicional em comparação com aquele causado por apenas INF-γ (sem bactérias). Na FIG. 9B, os sobrenadantes de cultura de diferentes espécies bacterianas testadas incluíram *Escherichia coli*, *Acidaminococcus sp. D21*, *Bacteroides fragilis*,

*Collinsella intestinalis.*, *Bifidobacterium bifidum*, *Peptoniphilus harei* (concentração final de sobrenadante de 15%). Amostras não tratadas (*ou seja,* sem bactérias, sem IFN-γ) foram usadas para medir a permeabilidade da barreira na ausência de defeito da barreira causado por IFN-γ. Butirato (5 mM) foi adicionado como um controle positivo, pois é conhecido por potencializar a integridade da junção da barreira epitelial por meio de vários mecanismos. Nestas condições de ensaio, descobriu-se que a adição de 5 mM de butirato reduziu a permeabilidade em 50%.

**[0106]** A FIG. 10 mostra o cronograma de tratamento para avaliar o efeito de bactérias formadoras de esporos na colite ulcerosa em um modelo animal de transferência adotiva de células T.

**[0107]** A FIG. 11 mostra uma comparação do escore de patologia total no modelo animal de colite ulcerosa após o tratamento com (i) antibióticos apenas (ABX), (ii) um HHSP, ou (iii) DE1 (uma composição de 14 espécies comensais humanas formadoras de esporos obtidas por fermentação axênica). Animais não expostos e animais com doenças não tratadas (Doença) foram usados como controles negativos e positivos, respectivamente. Todas as comparações foram feitas para o braço ABX. "**" indica um valor de p <0,01 em comparação com o controle com apenas antibióticos. "***" indica um valor de p de <0,001 em comparação com o controle com apenas antibióticos.

**[0108]** As FIGs. 12A, 12B, 12C, 12D e 12E mostram uma comparação do nível de expressão de mRNA medido por qPCR de diferentes genes da lâmina própria de cólons no modelo animal de colite ulcerosa após o tratamento com um dos seguintes: (i) antibióticos apenas (ABX), (ii) HHSP ou (iii) DE1. Animais não expostos, animais com doenças não tratadas (Doença) e animais apenas com ABX foram usados como controles. As FIGs. 12A e 12B mostram o nível de expressão dos genes pró-inflamatórios, *Il1b* e *TNFa*, respectivamente. As FIGs. 12C, 12D e 12E mostram o nível de expressão de diferentes moléculas de proteína de junção apertada epitelial, *Tjp1*, *Tjp2* e *Ocln*, respectivamente. Nas FIGs. 12A, 12B, 12C, 12D e 12E, o nível de expressão de mRNA dos diferentes genes é mostrado em relação à expressão de GAPDH. As comparações estatísticas referem-se apenas a animais ABX.

**[0109]** A FIG. 13 fornece uma tabela que mostra a capacidade de diferentes

cepas bacterianas de inibir a atividade de desacetilato de histona (HDAC). As cepas bacterianas testadas foram cultivadas em meio PY suplementado com uma das sete diferentes fontes de nutrientes na concentração final de 0,5% (glicose, fucose, sacarose, pectina, fos/inulina, amido ou mucina). A atividade de inibição de HDAC é mostrada como uma fração em comparação com controles apenas dos meios (HDACi=1-(HDACamostra/HDACcontrole de meio). Se uma cepa exibe atividade de HDACi de pelo menos 0,25 em qualquer nutriente ou 0,18 em fucose, esta é considerada como tendo atividade de HDACi e é marcada com "1". As cepas que não passam do valor de corte são indicadas por "0". As diferentes cepas bacterianas são categorizadas em 7 grupos diferentes (0 a 6) com base no padrão de atividade de inibição de HDAC em diferentes fontes de nutrientes (coluna da extrema direita).

**[0110]** As FIGs. 14A e 14B mostram a capacidade de diferentes metabólitos bacterianos (FIG. 14A) ou de um sobrenadante de uma preparação de esporos humanos saudáveis (HHSP) (FIG. 14B) para inibir a secreção de IL-8 por células epiteliais (IECs) HT29 após estimulação com TNF- α. Na FIG. 14A, os SCFAs de butirato (conjunto de barras à esquerda), propionato (conjunto de barras do meio) e acetato (conjunto de barras à direita) mostram um efeito anti-inflamatório dependente de dose em IECs mostrado como inibição percentual de IL-8 em comparação com controle apenas de TNF -α. A FIG. 14B mostra um efeito anti-inflamatório dependente de dose do sobrenadante de uma cultura de HHSP mostrado como uma diminuição no nível de proteína IL-8 produzida pelas IECs após tratamento com TNF-α. IECs que não foram estimuladas com TNF-α ou apenas com TNF-α foram usadas como controles (controles negativos e positivos, respectivamente).

**[0111]** As FIGs. 15A e 15B mostram a relação entre a inibição de HDAC (eixo x) e os efeitos anti-inflamatórios nas IECs (conforme medido pela redução relativa na produção de IL-8 após estimulação de TNF-α) usando sobrenadantes de diferentes espécies bacterianas. Cada círculo representa um sobrenadante separado de uma combinação de cepa bacteriana/nutriente, conforme mostrado na FIG. 13.Os valores positivos do eixo y indicam atividade anti-inflamatória. Os valores negativos do eixo y indicam maior produção de IL-8 do que o controle de

TNF-α apenas.A FIG. 15A mostra uma correlação positiva geral entre a inibição de HDAC e a atividade anti-inflamatória (linha tracejada), apesar do fato de que alguns sobrenadantes tiveram atividade anti-inflamatória significativamente menor do que o esperado por HDAC. A FIG. 15B separa os pontos de dados com atividade pró-inflamatória em um ensaio separado (secreção de IL-8 aumentada na ausência de estimulação de TNF-α). Nestes sobrenadantes, a inibição de HDAC não se traduziu em atividade anti-inflamatória em IECs.

**[0112]** A FIG. 16 mostra a relação entre a inibição de HDAC (eixo x) e a ativação de Wnt (eixo y) em HEK-293 Wnt-STF (conforme medido pela atividade de luciferase após a estimulação do sobrenadante bacteriano) usando sobrenadantes de diferentes espécies bacterianas. Cada círculo representa um sobrenadante separado de uma combinação de cepa bacteriana/nutriente, conforme mostrado na FIG. 13.

**[0113]** A FIG. 17 fornece resultados de triagem fenotípica de várias cepas de uma única espécie de *Lachnospiraceae*. Cada linha corresponde a uma única cepa e cada coluna corresponde a um fenótipo de triagem *in vitro*. Um tom escuro indica que a cepa é positiva para o fenótipo específico; um tom claro indica que uma cepa é fracamente positiva para o fenótipo; e branco indica que a cepa é negativa. Os diferentes fenótipos de triagem *in vitro* incluem atividades de ácido biliar (hidrolase de sal biliar (BSH), hidroxiesteroide desidrogenase (HSDH), 7α-desidroxilase) e efeitos pró-inflamatórios (conforme medidos pela produção de IL-8 por IECs quando expostas a um sobrenadante de cultura da cepa individual).

**[0114]** A FIG. 18 fornece uma tabela que lista as espécies bacterianas e os ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs), ácidos graxos de cadeia média (MCFAs) e ácidos graxos de cadeia ramificada (BCFAs) produzidos por cada uma das espécies. "<LOD" indica que a concentração do ácido graxo era menor que o limite de detecção. O limite de detecção para cada um dos ácidos graxos é fornecido na linha intitulada "Limite de Detecção (LOD)." Os SCFAs medidos incluíram: ácido acético, ácido propanoico e ácido butanoico. Os MCFAs medidos incluíram: ácido pentanoico, ácido hexanoico, ácido heptanoico. Os BCFAs medidos incluíram: ácido 2-metil-propanoico, ácido 3-metil-butanoico e ácido 4-metil-pentanoico.

**[0115]** A FIG. 19 fornece uma tabela que lista as espécies bacterianas e os

metabólitos de triptofano produzidos pela espécie. "<LOD" indica que a concentração do ácido graxo era menor que o limite de detecção. O limite de detecção para cada um dos ácidos graxos é fornecido na linha intitulada "Limite de Detecção (LOD)." Os metabólitos de triptofano medidos incluem: indol, 3-metil-indol, ácido indol-3-propanoico, ácido indol-3-butírico, ácido 3-indol-acrílico, triptamina, ácido indol-3-acético, ácido 3-indol-glicoxílico, ácido 2-picolínico e 5-hidroxitriptamina.

**[0116]** As FIGs. 20A a 20T fornecem uma comparação de vários atributos funcionais de oito DEs divulgados neste documento após terem sido cultivados *in vitro*: (1) DE1 (DE286037.1); (2) DE3 (DE984662.1); (3) DE4 (DE002165.1); (4) DE5 (DE464167.1); (5) DE6 (DE522292.1); (6) DE7 (DE247030.1); (7) DE8 (DE349441.1); e (8) DE9 (DE821956.1). Os seguintes atributos funcionais são mostrados: (i) biomassa (FIG. 20A); (ii) capacidade de inibir a atividade de HDAC (FIG. 20B); (iii) capacidade de inibir a secreção de IL-8 por células epiteliais (IECs) HT29 após estimulação com TNF-α (FIG. 20C); (iv) capacidade de induzir a produção de IL-8 por IECs (FIG. 20D); (v) capacidade de restaurar a integridade da barreira na presença de IFN-γ, conforme medido pelo ensaio de integridade da barreira epitelial (FIG. 20E); (vi) capacidade de expressar a atividade da catalase (FIG. 20F); (vii) capacidade de ativar o receptor do tipo toll 4 (TLR4) (FIG. 20G); (viii) capacidade de ativar TLR5 (FIG. 20H); (ix) capacidade de produzir butirato (FIG. 20I); (x) capacidade de produzir propionato (FIG. 20J); (xi) capacidade de produzir valerato (FIG. 20K); (xii) capacidade de produzir hexanoato (FIG. 20L); (xiii) capacidade de produzir indol (FIG. 20M); (xiv) capacidade de modular negativamente a transcrição de CXCL1, CXCL2, CXCL3 e CXCL11 (citocinas pró-inflamatórias expressas em pacientes com colite ulcerativa (UC)) em organoides epiteliais do cólon (FIGs. 20N, 20O, 20P e 20Q, respectivamente); e (xv) capacidade de ativar a via de sinalização Wnt, conforme determinado pela expressão dos genes CD44 e LRP6 e do ensaio de repórter HEK-293 Wnt-STF (FIGs. 20R, 20S e 20T, respectivamente).

**[0117]** As FIGs. 21A a 21Q fornecem uma comparação de vários atributos funcionais de catorze DEs adicionais divulgados neste documento após terem sido cultivados *in vitro*: (1) DE1 (DE286037.1); (2) DE6 (DE522292.1); (1) DE10

(DE698478.1); (2) DE11 (DE559846.1); (3) DE12 (DE405816.1); (4) DE13 (DE056280.1); (5) DE14 (DE390874.1); (6) DE15 (DE299561.1); (7) DE16 (DE504874.1); (8) DE17 (DE608959.1); (9) DE18 (DE124702.1); (10) DE19 (DE211714.1); (11) DE20 (DE313669.1); (12) DE21 (DE762708.1); (13) (13) DE22 (DE787951.1); e (14) DE23 (DE291114.1. Para fins de comparação, DE1 e DE6 foram incluídos. Os seguintes atributos funcionais são mostrados: (i) biomassa (FIG. 21A); (ii) capacidade de inibir a atividade de HDAC (FIG. 21B); (iii) capacidade de inibir a secreção de IL-8 por células epiteliais (IECs) HT29 após estimulação com TNF-α (FIG. 21C); (iv) capacidade de restaurar a integridade da barreira na presença de IFN-γ, conforme medido pelo ensaio de integridade da barreira epitelial (FIG. 21D); (v) capacidade de induzir a produção de IL-8 por IECs (FIG. 21E); (vi) capacidade de ativar TLR4 (FIG. 21F); (v) capacidade de ativar TLR5 (FIG. 21G); (vii) capacidade de produzir butirato (FIG. 21H); (viii) capacidade de produzir propionato (FIG. 21I); (ix) capacidade de produzir valerato e hexanoato (FIGs. 21J e 21K, respectivamente); (x) capacidade de produzir indol e 3-metil indol (FIGs. 21L e 21M, respectivamente); (x) atividade de hidrolase do sal biliar (conforme medido pela quantidade de ácidos biliares primários produzidos) (FIG. 21N); e (xi) atividade de 7α-desidroxilase, α-hidroxiesteroide desidrogenase e 7β-hidroxiesteroide desidrogenase (medida pela quantidade de diferentes ácidos biliares secundários produzidos) (FIGs. 21N, 21O e 21P, respectivamente). Nas FIGs. 21B a 21E, DE9 (DE821956.1), que foi projetado para não ser anti-inflamatório, foi usado como um controle negativo.

**[0118]** As FIGs. 22A a 22R fornecem uma comparação de vários atributos funcionais de doze DEs diferentes divulgados neste documento após terem sido cultivados *in vitro*: (1) DE24 (DE070875.1); (2) DE26 (DE343482.1); (3) DE25 (DE616787.1); (4) DE30 (DE068851.1); (5) DE28 (DE055548.1); (6) DE27 (DE033849.1); (7) DE29 (DE865106.1); (8) DE32 (DE779249.1); (9) DE33 (DE433598.1); (10) DE31 (DE502105.1); (11) DE34 (DE266386.1); e (12) DE35 (DE278442.1). DE9 e DE38 (DE533175.1) foram usados como controles negativos. Conforme descrito neste documento, DE9 e DE38 são composições bacterianas que foram projetadas para não ter uma ou mais das propriedades funcionais divulgadas neste documento (por exemplo, atividade anti-inflamatória). Os

seguintes atributos funcionais são mostrados: (i) biomassa (FIG. 22A); (ii) capacidade de inibir a atividade de HDAC (FIG. 22B); (iii) atividade anti-inflamatória (conforme medido pela capacidade de inibir a secreção de IL-8 pelas células epiteliais (IECs) HT29 após estimulação com TNF-α (FIG. 22C); (iv) atividade pró-inflamatória (conforme medido pelo capacidade de induzir a produção de IL-8 por IECs) (FIG. 22D); (v) capacidade de restaurar a integridade da barreira na presença de IFN-γ, conforme medido pelo ensaio de integridade da barreira epitelial (FIG. 22E); (vi) capacidade de produzir butirato (FIG. 22F); (vii) capacidade de produzir valerato (FIG. 22G); (viii) capacidade de produzir hexanoato (FIG. 22H); (ix) capacidade de produzir indol (FIG. 22I); (x) capacidade de produzir 3-metil indol (FIG. 22J); (xi) atividade de hidrolase do sal biliar (conforme medida pela quantidade de ácidos biliares primários produzidos) (FIG. 22K); (xii) atividade de 7α-desidroxilase (conforme medido pela quantidade dos ácidos biliares secundários ácido desoxicólico (DCA) e ácido litocólico (LCA) produzidos) (FIG. 22L); (xiii) atividade de α-HSDH (conforme medida pela quantidade de ácidos biliares oxo-secundários produzidos) (FIG. 22M); (xiv) a capacidade de modular negativamente a transcrição de CXCL1 e ICAM1 (proteínas associadas à resposta pró-inflamatória) em organoides epiteliais do cólon (FIGs. 22N e 22P, respectivamente); (xv) capacidade de aumentar a expressão de Cyp1a1 mediada por AhR em organoides epiteliais do cólon (FIG. 22O) (xvi) capacidade de ativar TLR4 (FIG. 22Q); e (xvii) capacidade de ativar TLR5 (FIG. 22R);

**[0119]** As FIGs. 23A a 23H fornecem comparação de propriedades adicionais (por exemplo, recursos funcionais) de DEs divulgados neste documento para FMT (transplante de microbiota fecal) e HHSP (composição de preparação de esporos). Nas FIGs. 23A a 23D, ambos DE1 (DE286037.1) e DE2 (DE924221.1) são comparados a FMT e HHSP. Nas FIGs. 23E a 23H, DE1 é comparado a HHSP. As diferentes propriedades mostradas incluem: (i) biomassa (FIG. 23A); (ii) inibição da atividade de HDAC (FIG. 23B); (iii) atividade pró-inflamatória (FIG. 23C); (iv) atividade anti-inflamatória (FIG. 23D); (v) produção de valerato (FIG. 23E); (vi) produção de hexanoato (FIG. 23F); (vii) produção de indol (FIG. 23G); e (viii) produção de 3-metil indol (escatol) (FIG. 23H).

**[0120]** As FIGs. 24A e 24B mostram, no eixo x, a expressão gênica

diferencial observada em biópsias do cólon em sujeitos com IBD em comparação com sujeitos sem IBD no banco de dados de HMP2; no eixo y, é mostrada a expressão gênica diferencial em organoides do cólon quando expostos a apenas meios em comparação com meios mais TNFα; cada ponto corresponde a um gene medido in vitro em organoides do cólon e em biópsias do cólon de sujeitos humanos. Cada ponto é baseado na mudança na expressão gênica quando organoides do cólon são expostos ao sobrenadante de HSSP cultivada, uma preparação de esporos de doadores saudáveis (24A, esquerda) ou de DE1 (DE286037.1) (24B, direita). Apenas genes que foram diferencialmente expressos em organoides após o tratamento com TNFα ($p<0,05$) são mostrados. Os pontos com tons mais claros representam genes que foram expressos diferencialmente em organoides após o tratamento com TNFα e HMP2, e não foram significativamente alterados pelo tratamento com sobrenadantes bacterianos. Os pontos com tons mais escuros representam genes que foram expressos diferencialmente em organoides após o tratamento com TNFα e HMP2 e que responderam ao tratamento com sobrenadante bacteriano (ou seja, sua expressão foi elevada em organoides tratados com TNF e reduzida com tratamento de sobrenadante, ou se sua expressão foi reduzida em organoides tratados com TNF mas aumentou com o tratamento com sobrenadante).

**[0121]** As FIGs. 25A a 25C fornecem uma comparação de DE1, FMT e HHSP com relação à sua capacidade de modular negativamente a transcrição da expressão de CXCL1 mediada por TNF-α (FIG. 25A), CXCL3 (FIG. 25B) e ICAM1 (FIG. 25C) em organoides epiteliais do cólon. Para FMT, duas das amostras eram de um doador saudável (FMT #1 e FMT #3), e uma amostra era de um paciente com colite ulcerosa (FMT #2). "Meios (+)" (meios com TNF-α) e "Meios (-)" (apenas meios, sem TNF-α) foram usados como controles positivo e negativo, respectivamente.

**[0122]** As FIGs. 26A e 26B fornecem uma comparação dos diferentes DEs divulgados neste documento para FMT e DXE (HHSP) com relação à sua capacidade de produzir indol e butirato, respectivamente.

**[0123]** As FIGs. 27A a 27C mostram a eficácia da combinação de DE1 com anticorpo anti-PD-1 no tratamento de tumor MC38 em um modelo animal. A FIG.

27A mostra o cronograma de tratamento. Todos os animais foram tratados com a composição DE1. Alguns dos animais receberam adicionalmente o anticorpo anti-PD-1, enquanto os animais de controle receberam um anticorpo de controle de isotipo. A FIG. 27B mostra uma comparação do volume tumoral nos animais dos diferentes grupos de tratamento dos dias 6 a 17 após a inoculação do tumor. A FIG. 27C fornece uma comparação da porcentagem de células T CD8 (gráfico à esquerda) e da razão células T CD8:Treg (gráfico à direita) nos tumores dos animais dos diferentes grupos de tratamento.

**[0124]** As FIGs. 28A a 28C mostram a eficácia da combinação do anticorpo DE2 e anti-PD-1 no tratamento de tumor MC38 em um modelo animal. O cronograma de tratamento geral é o mesmo que na FIG. 27A. Em vez de DE1, os animais foram tratados com a composição DE2. Alguns dos animais receberam adicionalmente o anticorpo anti-PD-1, enquanto os animais de controle receberam um anticorpo de controle de isotipo. A FIG. 28A mostra uma comparação do volume tumoral nos animais dos diferentes grupos de tratamento dos dias 6 a 17 após a inoculação do tumor. As FIGs. 28B e 28C fornecem uma comparação da porcentagem de células T CD8 e da razão células T CD8:Treg, respectivamente, nos tumores dos animais dos diferentes grupos de tratamento.

**[0125]** As FIGs. 29A a 29E mostram a eficácia da combinação de DE1 com anticorpo anti-PD-1 no tratamento de tumor BP em um modelo animal. A FIG. 29A mostra o cronograma de tratamento. Todos os animais foram tratados com a composição DE1. Alguns dos animais receberam adicionalmente o anticorpo anti-PD-L1, enquanto os animais de controle receberam um anticorpo de controle de isotipo. A FIG. 29B mostra uma comparação do volume tumoral nos animais dos diferentes grupos de tratamento ao longo de 15 dias a partir da inoculação do tumor. As FIGs. 29C, 29D e 29E mostram uma comparação da porcentagem de células T CD8, da razão células T CD8:Treg e da porcentagem de células T CD4, respectivamente, nos tumores dos animais dos diferentes grupos de tratamento.

**[0126]** A FIG. 30 fornece uma tabela que identifica as espécies bacterianas incluídas nas composições projetadas DE1-DE9. As SEQ ID NOs para as sequências 16S das espécies bacterianas também são fornecidas. "0" indica que a espécie bacteriana não está incluída; "1" indica que a espécie bacteriana está

incluída na composição fornecida.

**[0127]** A FIG. 31 fornece uma tabela que identifica as espécies bacterianas incluídas nas composições projetadas DE10-DE23. As SEQ ID NOs para as sequências 16S das espécies bacterianas também são fornecidas. "0" indica que a espécie bacteriana não está incluída; "1" indica que a espécie bacteriana está incluída na composição fornecida.

**[0128]** A FIG. 32 fornece uma tabela que identifica as espécies bacterianas incluídas nas composições projetadas DE24-DE38. As SEQ ID NOs para as sequências 16S das espécies bacterianas também são fornecidas. "0" indica que a espécie bacteriana não está incluída; "1" indica que a espécie bacteriana está incluída na composição fornecida.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA DIVULGAÇÃO

**[0129]** O Depositante descobriu que composições bacterianas que compreendem certas espécies de bactérias comensais exibem certos recursos (por exemplo, aqueles divulgados neste documento) e que tais composições podem ser usadas para tratar e/ou prevenir uma variedade doenças e distúrbios, por exemplo, aqueles associados com disbiose do microbioma intestinal. Consequentemente, o Depositante identificou espécies de bactérias comensais que podem ser combinadas para projetar composições bacterianas divulgadas neste documento. A divulgação detalhada das espécies bacterianas e os recursos funcionais de interesse são fornecidos na presente divulgação.

***I. Composições Bacterianas (Microbioma)***

**[0130]** As bactérias que se descobriu estarem associadas a certos recursos funcionais (por exemplo, aqueles descritos neste documento) podem ser usadas para projetar composições terapêuticas (por exemplo, composições bacterianas) para tratar e/ou prevenir uma variedade de doenças e distúrbios, tais como aqueles associados à disbiose do microbioma intestinal. Essas composições podem incluir material derivado diretamente de fezes de humanos saudáveis. As composições que compreendem material diretamente derivado de fezes humanas podem, em alguns casos, conter bactérias formadoras de esporos (SFB) derivadas de fezes humanas como o único tipo de bactéria presente na composição. Em outras modalidades, tais composições podem compreender esporos como o único tipo de

bactéria presente na composição (produto de esporo humano saudável; HHSP). Coletivamente, SFB e HHSP são referidos neste documento como "composições de esporos."

**[0131]** Em alguns casos, uma ou mais bactérias associadas à melhora em uma doença ou distúrbio (por exemplo, doença inflamatória) podem ser combinadas para produzir as composições projetadas (DEs) divulgadas neste documento. Em certas modalidades, uma ou mais bactérias associadas a certos recursos funcionais de interesse (por exemplo, aqueles descritos neste documento) podem ser combinadas nas composições bacterianas divulgadas neste documento. Ao combinar diferentes espécies bacterianas divulgadas neste documento, as composições projetadas divulgadas neste documento podem ter como alvo diferentes vias biológicas. Para que não haja limitação por qualquer teoria particular, tal capacidade permite que as composições projetadas divulgadas neste documento sejam úteis para o tratamento de uma ampla variedade de doenças e distúrbios, por exemplo, aqueles associados com uma disbiose do microbioma intestinal. As espécies em uma composição projetada podem ser formadoras de esporos (em alguns casos, na forma de esporo), não formadoras de esporos ou uma combinação destas. Coletivamente, as composições de esporos e as composições projetadas são referidas neste documento como "composições de microbioma." Os Requerentes descobriram, portanto, que composições de microbioma eficazes podem ser fabricadas e/ou projetadas com base em uma combinação de recursos identificados.

**[0132]** Consequentemente, são fornecidas neste documento bactérias e combinações de bactérias úteis para tratar e/ou prevenir um ou mais sinais ou sintomas de uma doença ou distúrbio associado com disbiose do microbioma gastrointestinal, por exemplo, colite ulcerosa. Em geral, tais composições incluem uma ou mais das bactérias descritas neste documento como exibindo um ou mais dos recursos funcionais de interesse divulga neste documento (por exemplo, associados à remissão da UC ou tendo um ou mais recursos associados à remissão da UC).

**[0133]** Em algumas modalidades, a quantidade, nível, identidade, presença e/ou proporção de bactérias no microbioma (por exemplo, microbioma

gastrointestinal) de um sujeito são manipulados para tratar, prevenir, desacelerar ou melhorar um ou mais sinais ou sintomas de uma doença ou distúrbio associado à disbiose do microbioma gastrointestinal (por exemplo, uma IBD, como colite ulcerativa).

**[0134]** O termo "enxerto microbiano" ou "enxerto" refere-se ao estabelecimento de OTUs (espécies ou cepas bacterianas) compreendendo uma composição microbiana terapêutica, por exemplo, uma composição bacteriana, em um nicho-alvo que está ausente ou é indetectável em um sujeito tratado antes do tratamento. Os micróbios que compreendem a ecologia enxertada estão presentes na composição microbiana terapêutica e se estabelecem como constituintes da ecologia microbiana do sujeito. As OTUs enxertadas podem se estabelecer por um período transitório de tempo, ou demonstrar estabilidade em longo prazo na ecologia microbiana que popula o sujeito pós-tratamento com uma composição microbiana terapêutica. Sem que haja comprometimento exclusivo com qualquer teoria, o produto farmacêutico (*ou seja*, composições bacterianas divulgadas neste documento) pode catalisar uma mudança de uma ecologia disbiótica para uma representativa de um estado saudável, seja por enxerto de espécies de produto farmacêutico, seja pela promoção de condições ecológicas favoráveis para o crescimento de micróbios comensais não produtos presentes no paciente (aumento), ou ambos.

**[0135]** Conforme utilizado neste documento, o enxerto é indicado por um ou mais dos seguintes resultados: (i) enxerto a nível de cepa, (ii) enxerto de população a nível de espécie, (iii) enxerto de sujeito a nível de espécie e (iv) enxerto putativo. "Enxerto de nível de cepa" é determinado usando um ensaio em que as frequências de variante de nucleotídeo único (SNV) exclusivas para a composição da droga são usadas para determinar se as cepas de espécies detectadas em sujeitos tratados são significativamente mais semelhantes às cepas na composição em comparação com as cepas de espécies detectadas em sujeitos antes do tratamento. O enxerto de nível de cepa é medido por sujeito e por espécie. "Enxerto de população em nível de espécie" refere-se à prevalência significativamente aumentada ($p <= 0,05$) de uma espécie em sujeitos tratados em relação a sujeitos não tratados em qualquer ponto de tempo pós-tratamento, conforme medido com um teste exato de

Fisher, com a exigência de que a espécie não tenha sido detectada em sujeitos tratados antes do tratamento, mas tenha sido detectada na composição. O enxerto populacional em nível de espécie é uma medida em nível de população e requer uma diferença significativa (p <= 0,05) entre a população tratada com um determinado regime em comparação com o placebo. "Enxerto de sujeito em nível de espécie" refere-se à detecção de uma espécie presente no HHSP em um sujeito pós-tratamento, quando a referida espécie não foi detectada pré-tratamento nesse sujeito. "Enxerto putativo" refere-se à prevalência significativamente aumentada (p <= 0,05) de uma espécie em sujeitos tratados em relação a sujeitos não tratados em qualquer ponto de tempo pós-tratamento, conforme medido com um teste exato de Fisher. O enxerto putativo requer ainda que a espécie tenha sido detectada na composição da droga e pode ou não estar presente no sujeito tratado antes do tratamento. O "enxerto putativo" é uma estatística ao nível da população. O enxerto putativo pode ser avaliado posteriormente usando métricas de nível de cepa para o enxerto.

**[0136]** Em algumas modalidades, o termo enxerto pode ser ainda dividido em enxerto de longo prazo e enxerto transitório. "Enxerto de longo prazo" refere-se à capacidade das espécies ou cepas bacterianas divulgadas neste documento para residir de forma durável no trato gastrointestinal dos sujeitos após o tratamento. Essas espécies ou cepas são descritas neste documento como "enxertadora de longo prazo" (LTE). Em algumas modalidades, os enxertadores de longo prazo continuam a estar presentes no sujeito (por exemplo, no trato gastrointestinal) por cerca de 4 semanas, cerca de 8 semanas, cerca de 12 semanas ou mais após o início da dosagem de uma composição bacteriana divulgada neste documento. "Enxerto transitório" refere-se à capacidade de espécies ou cepas bacterianas (por exemplo, aquelas divulgadas neste documento) para residir no trato gastrointestinal de sujeitos após o tratamento, mas são detectados apenas nas amostras fecais de sujeitos por um período limitado de tempo. Em algumas modalidades, se bactérias ou combinações de bactérias são detectadas na amostra fecal de um sujeito, geralmente acredita-se que essas bactérias ou combinações de bactérias permanecem presentes dentro do trato gastrointestinal. Essas espécies ou cepas são descritas neste documento como "enxertador transitório" (TE). Em algumas

modalidades, os enxertadores transitórios não estão mais presentes no sujeito (por exemplo, não são mais detectados na amostra fecal do sujeito) cerca de 1 semana, cerca de 2 semanas ou cerca de 4 semanas após o início da dosagem (*ou seja*, administrando uma composição bacteriana divulgada neste documento. Exemplos não limitativos de LTEs e TEs são fornecidos na Tabela 5.

**[0137]** É um recurso fundamental de uma composição de microbioma (por exemplo, composições projetadas), conforme fornecido neste documento, que uma ou mais espécies ou OTUs de bactérias na composição do microbioma se enxertem em um sujeito tratado com a composição, por exemplo, um sujeito que responde ao tratamento por uma melhora em pelo menos um sinal ou sintoma da doença sendo tratada. Em algumas modalidades, uma composição de microbioma divulgada neste documento compreende uma ou mais espécies ou OTUs de bactérias que são enxertadoras de longo prazo. Em outras modalidades, uma composição de microbioma compreende uma ou mais espécies ou OTUs de bactérias que são enxertadoras transitórias. Em certas modalidades, uma composição de microbioma compreende tanto os enxertadores de longo prazo quanto os transitórios. Em certas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais enxertadores de longo prazo. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais enxertadores transitórios. Em outras modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende três ou mais enxertadores transitórios e/ou sete ou mais enxertadores de longo prazo.

**[0138]** Tal conforme usado neste documento, "aumento" refere-se ao estabelecimento ou aumento significativo de uma população de micróbios, ou espécies selecionadas ou OTUs, que estão (i) ausentes ou indetectáveis (conforme determinado pelo uso de técnicas genômicas ou microbiológicas conhecidas e/ou especificadas) em uma composição de microbioma terapêutica administrada, (ii) ausente, indetectável ou presente em baixas frequências no nicho do hospedeiro (por exemplo: trato gastrointestinal (trato GI), pele, narinas anteriores ou vagina) antes do tratamento com a composição de microbioma em comparação com após o tratamento com a composição do microbioma, e (iii) são encontrados no

hospedeiro (sujeito) após a administração da composição do microbioma ou são significativamente aumentados após o tratamento, por exemplo, cerca de 2 vezes, cerca de 5 vezes, cerca de $1\times10^2$, cerca de $1\times10^3$, cerca de $1\times10^4$, cerca de $1\times10^5$, cerca de $1\times10^6$, cerca de $1\times10^7$ vezes ou maior do que $1\times10^8$ vezes, nos casos em que estavam presentes em baixas frequências. Os micróbios que compreendem uma população aumentada podem ser derivados de fontes exógenas, como alimentos e meio ambiente ou crescer a partir de micro nichos dentro do hospedeiro onde residem em frequência baixa. Em alguns aspectos da invenção, após o tratamento com uma composição de microbioma conforme fornecido neste documento, uma ou mais espécies ou OTUs de bactérias são aumentadas no sujeito tratado, por exemplo, um sujeito que responde ao tratamento por uma melhoria em pelo menos um sinal ou sintoma da doença a ser tratada.

**[0139]** Sem se comprometer com nenhuma teoria, a administração de uma composição terapêutica de microbioma pode induzir uma mudança no nicho alvo, por exemplo, o trato GI, que promove condições favoráveis para o crescimento de certos micróbios comensais, *ou seja*, eles são aumentados. Na ausência de tratamento com uma composição de microbioma terapêutica, embora o hospedeiro possa ser exposto ou abrigar esses micróbios comensais, o crescimento sustentado e os efeitos positivos para a saúde associados a esses micróbios não são observados ou são menos frequentemente observados em uma população tratada com a composição de microbioma.

**[0140]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende uma população de bactérias que foram purificadas a partir de um material biológico (por exemplo, materiais fecais, como fezes ou materiais isolados dos vários segmentos do intestino delgado e grosso) obtido de um sujeito doador mamífero (por exemplo, um humano saudável). Em algumas modalidades, o material biológico (por exemplo, material fecal) é obtido de vários doadores (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 750, 1000 ou de mais de 1000 doadores), e os materiais são reunidos antes da purificação ou após a purificação das bactérias desejadas. Em outras modalidades, o material biológico (amostra) pode ser obtido de um único sujeito doador em vários momentos e duas ou mais amostras reunidas, por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,

15, 20, 25, 30, 32, 35, 40, 45, 48, 50, 100 amostras de um único doador. Os métodos de fazer tais preparações incluem o tratamento das fezes com clorofórmio, acetona, etanol e semelhantes, por exemplo*, ver* PCT/US2014/014745 e Pat. Nº 9.011.834, que são incorporadas neste documento por referência em sua totalidade.

**[0141]** Em modalidades, uma composição de microbioma derivada de fezes é esgotada em produtos residuais de habitat. "Produtos residuais do habitat" refere-se ao material derivado do habitat de uma microbiota dentro ou sobre um humano ou animal, excluindo a microbiota. A microbiota de um indivíduo está, por exemplo, nas fezes do trato gastrointestinal, na própria pele, na saliva, no muco do trato respiratório ou nas secreções do trato geniturinário, todos contendo substâncias biológicas e outras associadas à comunidade microbiana. "Substancialmente livre de produtos residuais de habitat" significa que a composição bacteriana contém uma quantidade reduzida da matéria biológica associada ao ambiente microbiano no ou no sujeito humano ou animal e é cerca de 100% livre, cerca de 99% livre, cerca de 98% livre, cerca de 97% livre, cerca de 96% livre ou cerca de 95% livre de qualquer matéria biológica contaminante associada à comunidade microbiana ou a matéria contaminante está abaixo de um nível de detecção. Os produtos residuais do habitat podem incluir materiais abióticos (incluindo alimentos não digeridos) ou podem incluir micro-organismos indesejados. Substancialmente livre de produtos residuais de habitat também pode significar que a composição bacteriana não contém células detectáveis de um ser humano ou animal e que apenas as células microbianas são detectáveis. Em algumas modalidades, substancialmente livre de produtos residuais do habitat pode significar que a composição bacteriana não contém contaminantes virais detectáveis (incluindo vírus bacterianos (*ou seja*, fago)) fúngicos ou micoplasmáticos. Em outras modalidades, isso significa que menos do que cerca de $1\times10^{-2}$%, cerca de $1\times10^{-3}$%, cerca de $1\times10^{-4}$%, cerca de $1\times10^{-5}$%, cerca de $1\times10^{-6}$%, cerca de $1\times10^{-7}$%, cerca de $1\times10^{-8}$% das células viáveis na composição bacteriana são humanas ou animais, em comparação com as células microbianas. Existem várias maneiras de reduzir a presença de produtos residuais do habitat, nenhuma dessas sendo limitante. Assim, a contaminação pode ser reduzida pelo isolamento dos constituintes desejados por meio de várias etapas de esgotamento em estrias (streaking) para colônias únicas em meio sólido em

estrias replicadas (tal como, mas não limitado a duas) de colônias únicas em série demonstrarem apenas uma morfologia de colônia única. Alternativamente, a redução da contaminação pode ser realizada por várias rodadas de diluições em série para células individuais desejadas (por exemplo, uma diluição de cerca de $10^{-8}$ ou cerca de $10^{-9}$), como por meio de várias diluições em série de 10 vezes. Isso pode ainda ser confirmado pela demonstração de que várias colônias isoladas têm formas de células semelhantes e comportamento de coloração de Gram. Outros métodos para confirmar a redução adequada de produtos residuais de habitat incluem análise genética (por exemplo, PCR, sequenciamento de DNA), sorologia e análise de antígeno, análise enzimática e metabólica e métodos que usam instrumentação, como citometria de fluxo com reagentes que distinguem os constituintes desejados dos contaminantes.

*Composições HHSP*

**[0142]** Geralmente, em uma composição de HHSP divulgada neste documento, o material bacteriano é substancialmente composto de esporos bacterianos viáveis como o componente vivo.

**[0143]** Conforme usado neste documento, o termo "esporo" ou "endósporo" refere-se a uma entidade, particularmente uma entidade bacteriana, que está em uma fase dormente, não vegetativa e não reprodutiva. Os esporos são geralmente resistentes ao estresse no ambiente, como radiação, dessecação, tratamento enzimático, variação de temperatura, privação de nutrientes, oxigênio e desinfetantes químicos. Em algumas modalidades, um esporo ou população de esporos é resistente a 50% de etanol.

**[0144]** Uma "população de esporos" refere-se a uma pluralidade de esporos presentes em uma composição. Os termos sinônimos usados neste documento incluem composição de esporos, preparação de esporos, fração de esporos tratada com etanol e ecologia de esporos. Uma população de esporos pode ser purificada a partir de uma doação fecal, por exemplo, por meio de etanol ou tratamento térmico ou uma separação de gradiente de densidade ou qualquer combinação de métodos descritos neste documento para aumentar a pureza, potência e/ou concentração de esporos em uma amostra. Alternativamente, uma população de esporos pode ser derivada através de métodos de cultura a partir de espécies formadoras de esporos

isoladas ou OTUs formadoras de esporos ou de uma mistura de tais espécies, tanto na forma vegetativa quanto na forma de esporos.

**[0145]** Em algumas modalidades, a preparação de esporos compreende espécies formadoras de esporos em que espécies não formadoras de esporos residuais foram inativadas por tratamentos químicos ou físicos, incluindo etanol, detergente, calor, sonicação e semelhantes ou em que as espécies não formadoras de esporos foram removidas da preparação de esporos por várias etapas de separação incluindo gradientes de densidade, centrifugação, filtração e/ou cromatografia ou em que os métodos de inativação e separação são combinados para fazer a preparação de esporos. Em ainda outra modalidade, a preparação de esporos compreende espécies formadoras de esporos que são enriquecidas sobre não formadores de esporos viáveis ou formas vegetativas de formadores de esporos. Nesta modalidade, os esporos são enriquecidos em cerca de 2 vezes, cerca de 5 vezes, cerca de 10 vezes, cerca de 50 vezes, cerca de 100 vezes, cerca de 1000 vezes, cerca de 10.000 vezes ou mais do que cerca de 10.000 vezes em comparação a todas as formas vegetativas de bactérias. Ainda em outra modalidade, os esporos na preparação de esporos sofrem germinação parcial durante o processamento e a formulação de modo que a composição final compreende esporos e bactérias vegetativas derivadas de espécies formadoras de esporos.

**[0146]** O termo "germinante" refere-se a um material ou composição ou processo físico-químico capaz de induzir o crescimento vegetativo de uma bactéria que está em uma forma de esporo dormente ou grupo de bactérias na forma de esporo, direta ou indiretamente em um organismo hospedeiro e/ou *in vitro*.

**[0147]** O termo "agente de indução de esporulação" refere-se a um material ou processo físico-químico que é capaz de induzir a esporulação em uma bactéria, direta ou indiretamente, em um organismo hospedeiro e/ou *in vitro*.

**[0148]** O termo "aumento da produção de esporos bacterianos" inclui uma atividade ou um agente de indução de esporulação. "Produção", neste contexto, inclui a conversão de células bacterianas vegetativas em esporos e aumento da taxa de tal conversão, bem como diminuição da germinação de bactérias na forma de esporos, diminuindo a taxa de decomposição de esporos *in vivo* ou *ex vivo* ou

para aumentar a produção total de esporos (por exemplo, por meio de um aumento na produção volumétrica de material fecal).

**[0149]** Em algumas modalidades, a preparação de um HHSP inclui suspender uma amostra em etanol, por exemplo, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%. Em alguns casos, a preparação de um HHSP inclui suspender uma amostra em cerca de 30 a cerca de 100% de etanol, cerca de 40 a cerca de 80% de etanol, cerca de 50 a cerca de 80% de etanol, cerca de 30% de etanol, cerca de 40% de etanol, cerca de 50% de etanol, cerca de 55% de etanol, cerca de 60% de etanol, cerca de 65% de etanol, cerca de 70% de etanol, cerca de 75% de etanol, cerca de 80% de etanol, cerca de 85% de etanol, cerca de 90% de etanol, cerca de etanol 95% ou cerca de 100%.

**[0150]** Tal conforme usado neste documento, os termos "purificado" e "purificação" referem-se ao estado de uma população (por exemplo, uma pluralidade de quantidade e/ou concentração conhecida ou desconhecida) de bactérias ou esporos bacterianos desejados, que sofreram um ou mais processos de purificação, por exemplo, uma seleção ou um enriquecimento da bactéria e/ou esporo bacteriano desejado ou, alternativamente, uma remoção ou redução de produtos residuais de habitat conforme descrito neste documento. Em algumas modalidades, uma população purificada não tem atividade indesejável detectável ou, alternativamente, o nível ou a quantidade da atividade indesejada é igual ou inferior a um nível ou quantidade aceitável. Em outras modalidades, uma população purificada tem uma quantidade e/ou concentração de bactérias ou esporos bacterianos desejados, por exemplo, de um modo geral ou de espécies selecionadas, em ou acima de uma quantidade e/ou concentração aceitável. Em outras modalidades, a proporção da atividade desejada para a indesejada (por exemplo, esporos em comparação com bactérias vegetativas), mudou em cerca de 2-vezes, cerca de 5-vezes, cerca de 10-vezes, cerca de 30-vezes, cerca de 100-vezes, cerca de 300-vezes, cerca de $1\times10^4$, cerca de $1\times10^5$, cerca de $1\times10^6$, cerca

de $1\times10^7$, cerca de $1\times10^8$, ou maior do que cerca de $1\times10^8$. Em outras modalidades, uma população purificada de esporos bacterianos é enriquecida em comparação com a matéria-prima (por exemplo, um material fecal) do qual a população é obtida. Este enriquecimento pode ser de cerca de 10%, cerca de 20%, cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 90%, cerca de 95%, cerca de 96%, cerca de 97%, cerca de 98%, cerca de 99%, cerca de 99,9%, cerca de 99,99%, cerca de 99,999%, cerca de 99,9999%, cerca de 99,9999% ou maior do que cerca de 99,999999% em comparação com a matéria-prima.

**[0151]** Em algumas modalidades, uma população purificada de bactérias tem níveis reduzidos ou indetectáveis de um ou mais patógenos (por exemplo, bactérias patogênicas, vírus ou fungos), uma ou mais atividades patogênicas, como toxicidade, uma capacidade de causar infecção no sujeito receptor mamífero, uma atividade imunomoduladora indesejada, uma resposta autoimune, uma resposta metabólica ou uma resposta inflamatória ou uma resposta neurológica. Em algumas modalidades, a atividade patogênica da bactéria é reduzida em pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, em pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 99% em comparação com a bactéria de referência. Em algumas modalidades, uma população purificada de bactérias reduziu os componentes sensoriais em comparação com a matéria fecal, como odor, sabor, aparência e umami reduzidos.

**[0152]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento é substancialmente livre de produtos residuais de habitat e/ou substancialmente livre de um nível detectável de um material patogênico (por exemplo, não contém vírus detectáveis (incluindo vírus bacterianos, (*ou seja*, fago)), fúngico, micoplasmático ou contaminantes toxoplasmáticos ou parasitas eucarióticos, como um helminto; ou com um nível aceitável dos anteriores. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana é substancialmente livre de material acelular (por exemplo, DNA, material de revestimento viral ou material

bacteriano não viável).

*Composições projetadas (DEs)*

**[0153]** O requerente descobriu que certas famílias, gêneros, espécies e OTUs de bactérias em um HHSP estão associados a uma melhora (por exemplo, remissão clínica) de uma doença ou distúrbio associado à disbiose do microbioma gastrointestinal (por exemplo, colite ulcerativa). Além disso, algumas dessas famílias, gêneros, espécies e OTUs foram associados ao enxerto. Além disso, algumas famílias, gêneros, espécies e OTUs não estavam presentes e/ou não foram detectados em um sujeito que sofre de uma doença ou distúrbio associado à disbiose do trato gastrointestinal (por exemplo, em um paciente com colite ulcerativa) e foram aumentados em um sujeito cujo estado de doença melhorou após o tratamento com um HHSP. Essas bactérias que estão associadas à melhora em um sujeito são úteis em composições para o tratamento de uma doença ou distúrbio associado à disbiose (por exemplo, uma doença inflamatória, como uma IBD, por exemplo, colite ulcerativa). Além disso, o requerente descobriu que certas espécies estão negativamente associadas a uma melhoria na doença ou distúrbio associado à disbiose. Em geral, tais espécies não estão incluídas em uma composição útil para o tratamento de tais doenças. Os requerentes identificaram ainda famílias, gêneros, espécies e OTUs de bactérias que exibem certos recursos funcionais que podem ser úteis no tratamento de uma ampla gama de doenças e distúrbios, incluindo aqueles associados com disbiose do trato gastrointestinal (por exemplo, doenças inflamatórias).

**[0154]** Por conseguinte, são divulgadas neste documento composições de microbioma que foram projetadas para exibir certas características. Exemplos não limitativos de tais recursos incluem: (i) capaz de enxertar quando administrado a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário (atividade da 7α-desidroxilase e da hidrolase do sal biliar), (v) incapaz de produzir ácido ursodesoxicólico (atividade da 7β-hidroxisteroide desidrogenase); (vi) capaz de produzir um metabólito de triptofano (por exemplo, indol, 3-metil indol, ácido indolepropiônico), (vii) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de célula

epitelial primária, (viii) capaz de ser associado com remissão de uma doença inflamatória intestinal, (ix) capaz de não estar associada à não remissão clínica de uma doença inflamatória intestinal, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta (por exemplo, butirato, propionato), (xi) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (xii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média (por exemplo, valerato, hexanoato), (xiii) capaz de expressar atividade de catalase, (xiv) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xv) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xvi) capaz de produzir uma vitamina B, (xvii) capaz de modular o metabolismo do endocanabinoide do hospedeiro, (xviii) capaz de produzir uma poliamina e/ou modular o metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xix) capaz de reduzir os níveis fecais de um esfingolipídeo, (xx) capaz de modular a produção de quinurenina do hospedeiro, (xxi) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xxii) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxiii) capaz de ativar uma via de receptor tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), ou (xxiv) qualquer combinação destes. Essas composições de microbioma são descritas neste documento como "composições projetadas" ou DEs. Exemplos não limitativos de composições projetadas são descritos, por exemplo, nas FIGs., 3334 e 35. Em algumas modalidades, uma composição projetada divulgada neste documento compreende um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, doze, treze, quatorze, quinze, dezesseis, dezessete, dezoito, dezenove, vinte, vinte e um, vinte e dois ou todos os recursos acima. Em certas modalidades, uma composição projetada da presente divulgação pode compreender características que visam múltiplas vias biológicas, de modo que a mesma composição pode ser usada para tratar uma ampla gama de doenças e distúrbios.

**[0155]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende um ou mais recursos selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de

produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) capaz de induzir ativação de Wnt, ou (xi) qualquer combinação destes. Em algumas modalidades, as bactérias em uma composição de microbioma compreendem uma ou mais famílias, gêneros, espécies ou OTUs que estão aumentados no microbioma GI de um paciente que sofre de uma doença ou distúrbio associado à disbiose do trato gastrointestinal (por exemplo, um úlcera paciente com colite ulcerativa) ou população de pacientes antes do tratamento com uma composição de microbioma complexa, por exemplo, uma composição de HHSP, e aumentada em um sujeito ou uma população de sujeitos após o tratamento com uma composição de HHSP. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende famílias, gêneros, espécies ou OTUs de bactérias selecionados. Em geral, as bactérias são bactérias comensais inicialmente derivadas, por exemplo, de um trato GI, tipicamente o trato GI de um ser humano, isoladas e cultivadas em culturas puras que podem ser usadas em um DE. Estas bactérias são selecionadas pelas propriedades desejadas, conforme descrito neste documento, e usadas na composição projetada. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana (por exemplo, composições projetadas divulgadas neste documento) compreende mais de dois tipos de bactérias. Por conseguinte, em algumas modalidades, uma composição bacteriana da presente divulgação compreende pelo menos 2, pelo menos 3, pelo menos 4, pelo menos 5, pelo menos 6, pelo menos 7, pelo menos 8, pelo menos 9, pelo menos 10, pelo menos 11, pelo menos 12, pelo menos 13, pelo menos 14, pelo menos 15, pelo menos 16, pelo menos 17, pelo menos 18, pelo menos 19, pelo menos 20 ou pelo menos 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 ou pelo menos 40, pelo menos 50 ou mais de 50 tipos de bactérias, conforme definido por espécie ou unidade taxonômica operacional (OTU) ou de outra forma conforme fornecido neste documento. As bactérias em uma composição podem estar presentes em quantidades aproximadamente iguais de bactérias viáveis ou cada família, gênero, espécie de OTU. Em outras modalidades da invenção, as bactérias estão presentes em quantidades variáveis na composição. Exemplos não limitativos de espécies bacterianas que podem ser usadas na concepção das

composições de microbioma divulgadas neste documento são fornecidos na Tabela 4, Tabela 5, FIG. 13, FIG. 17, FIG. 30, FIG. 31 e/ou FIG. 32.

**[0156]** Em algumas modalidades, as bactérias em uma composição de microbioma divulgada neste documento são de uma família, gênero, espécie ou OTU esgotados em um sujeito que sofre de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados a uma disbiose (por exemplo, pacientes com colite ulcerativa) e/ou tipicamente presentes apenas em níveis baixos ou ausentes em pacientes diagnosticados com uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, colite ulcerativa). Em algumas modalidades, uma composição bacteriana inclui uma ou mais bactérias adicionais que estão presentes com alta frequência em uma população de humanos saudáveis ou indivíduos com uma doença ou distúrbio associado à disbiose (por exemplo, pacientes com colite ulcerativa), mas que não estão exibindo sintomas associados a doença ativa (*ou seja*, em remissão clínica).

**[0157]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende uma ou mais bactérias da família *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Sutterellaceae*, *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bacteroidaceae*, *Akkermansiaceae*, *Peptostreptococcaceae, Eubacteriaceae* ou Desulfovibrionaceae. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana pode compreender pelo menos uma, duas, três, quatro, cinco, seis, sete ou todas as famílias listadas.

**[0158]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende bactérias com pelo menos cerca de 97%, por exemplo, pelo menos cerca de 99%, identidade com uma sequência de rDNA 16S (por exemplo, um comprimento completo ou região variável de uma sequência de DNA 16S) com um ou mais de as seguintes espécies bacterianas: *Gemmiger formicilis*, *Roseburia hominis*, *Clostridium bolteae*, *Parasutterella excrementihominis*, *Holdemania filiformis*, *Holdemania massiliensis*, *Bacteroides ovatus*, *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium leptum*, *Bilophila wadsworthia*, *Dielma fastidiosa*, *Clostridium symbiosum*, *Eubacterium siraeum, Clostridium innocuum*, *Agathobaculum desmolans*, *Agathobaculum butyriciproducens*, ou *Bacteroides vulgatus.* Em algumas modalidades, uma ou mais das bactérias em uma composição tem pelo

menos cerca de 97% de identidade, por exemplo, cerca de 99% de identidade, com um 16S rDNA das espécies anteriores. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana pode compreender pelo menos um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, doze, treze, quatorze, quinze ou todas as espécies listadas.

**[0159]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende bactérias com pelo menos cerca de 97% de identidade, por exemplo, cerca de 99% de identidade, com uma sequência de rDNA 16S (por exemplo, um comprimento completo ou região variável ou uma sequência de DNA 16S) com um ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Gemmiger formicilis*, *Roseburia hominis*, *Clostridium bolteae*, *Parasutterella excrementihominis*, *Holdemania filiformis*, *Holdemania massiliensis*, *Bacteroides ovatus*, *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium leptum*, *Bilophila wadsworthia*, *Dielma fastidiosa*, *Clostridium symbiosum*, *Eubacterium siraeum*, *Clostridium] innocuum, Erysipelotrichaceae SC11, Roseburia sp CAG 45 SC195, Lachnospiraceae SC188, Lachnospiraceae SC52, Clostridium SC125, Flintibacter SC49, Agathobaculum desmolans*, *Agathobaculum butyriciproducens*, ou *Bacteroides vulgatus.* Em algumas modalidades, uma ou mais das bactérias em uma composição tem pelo menos 97% de identidade, por exemplo, 99% de identidade, com um 16S rDNA das espécies anteriores. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana pode compreender pelo menos um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, doze, treze, quatorze, quinze ou todas as espécies listadas.

**[0160]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Gemmiger formicilis, Roseburia hominis, Clostridium bolteae, Holdemania filiformis, Holdemania massiliensis, Clostridium leptum, Dielma fastidiosa, Clostridium symbiosum,* Eubacteriumsiraeum e combinações destes. Em algumas modalidades, uma ou mais das bactérias em uma composição tem pelo menos cerca de 97% de identidade, por exemplo, cerca de 99% de identidade, com um 16S rDNA das espécies anteriores. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana pode compreender pelo menos uma, duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito ou todas as espécies de bactérias listadas.

**[0161]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende

uma ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Anaerotruncus colihominis*, *Blautia producta*, *Clostridium bolteae*, *Clostridium disporicum*, *Clostridium ghonii*, *Clostridium glycolicum*, *Clostridium innocuum*, *Clostridium lactatifermentans*, *Clostridium viride*, *Eubacterium* sp. WAL 14571, *Lachnospiraceae* bacterium 3 1 57FA, *Lachnospiraceae* táxon bacteriano oral F15, *Lactonifactor longoviformis*, ou *Ruminococcus lactaris*. Em algumas modalidades, uma ou mais das bactérias em uma composição tem pelo menos 97% de identidade, por exemplo, 99% de identidade, com um 16S rDNA das espécies anteriores.

**[0162]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana (por exemplo, composição projetada) divulgada neste documento compreende uma ou mais das espécies bacterianas divulgadas na Tabela 4, Tabela 5, FIG. 13, FIG. 17, FIG. 30, FIG. 31 e/ou FIG. 32.

**[0163]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana da presente divulgação compreende uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos cerca de 99%, pelo menos cerca de 99,5% ou cerca de 100% idêntica a uma sequência de rDNA 16S estabelecida em SEQ ID NOs: 1-14, 16-30, 32-36, 39, 41, 44, 45, 47-51, 59-62, 64-68, 72-76 e 102-398.

**[0164]** O termo "sequenciamento 16S" ou "16 s rDNA" ou "16S" refere-se à sequência derivada pela caracterização dos nucleotídeos que compreende (m) o (s) gene (s) do RNA ribossômico 16S. O 16S rDNA bacteriano tem aproximadamente 1.500 nucleotídeos de comprimento e é usado na reconstrução das relações evolutivas e semelhança de sequência de um isolado bacteriano para outro usando abordagens filogenéticas. As sequências 16S são usadas para reconstrução filogenética, pois em geral são altamente conservadas, mas contêm regiões hipervariáveis específicas que abrigam diversidade de nucleotídeos suficiente para diferenciar gêneros e espécies da maioria das bactérias.

**[0165]** O termo "regiões V1-V9" do 16s rRNA refere-se à primeira até a nona regiões hipervariáveis do gene 16S rRNA que são usadas para tipagem genética de amostras bacterianas. Estas regiões nas bactérias são definidas pelos

nucleotídeos 69-99, 137-242, 433-497, 576-682, 822-879, 986-1043, 1117-1173, 1243-1294 e 1435-1465 respectivamente usando numeração baseada no sistema de nomenclatura de *E. coli* . Brosius *et al.*, Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*, *PNAS* 75(10):4801-4805 (1978). Em algumas modalidades, pelo menos uma das regiões V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8 e V9 são usadas para caracterizar uma OTU. Em algumas modalidades, as regiões V1, V2 e V3 são usadas para caracterizar uma OTU. Em outra modalidade, as regiões V3, V4 e V5 são usadas para caracterizar uma OTU. Em outra modalidade, a região V4 é usada para caracterizar uma OTU. Aquele versado na técnica pode identificar as regiões hipervariáveis específicas de um 16S rRNA candidato comparando a sequência candidata em questão a uma sequência de referência, identificando as regiões hipervariáveis com base na semelhança com as regiões hipervariáveis de referência ou, alternativamente, pode-se empregar caracterização de Sequenciamento Shotgun Total (Whole Genome Shotgun, WGS) de micróbios ou de uma comunidade microbiana.

**[0166]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento (por exemplo, composições projetadas) compreende uma bactéria formadora de esporos e uma bactéria não formadora de esporos. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende apenas bactérias formadoras de esporos. Em alguns casos, as bactérias da composição estão na forma de esporos.

**[0167]** O requerente também descobriu que certas espécies bacterianas estão associadas à exacerbação ou não melhora de pelo menos um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio associado à disbiose do microbioma gastrointestinal (por exemplo, colite ulcerativa). A presença de tais espécies em uma composição bacteriana pode ser indesejável. Por conseguinte, em algumas modalidades, uma composição bacteriana (por exemplo, composições projetadas) não inclui uma ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Eubacterium contortum*, *Clostridium hathewayi*, *Erysipelatoclostridum ramosum*, *Bifidobacterium dentium*, *Dialister invisus*, *Prevotella copri*, *Veillonella atypica*, *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, ou *Veillonella ratti*. Em certas modalidades, uma composição bacteriana não inclui uma ou mais bactérias que têm pelo menos cerca de 97%, por

exemplo, cerca de 99% de identidade, com um 16S rDNA das espécies anteriores. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana não inclui pelo menos um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze ou todas as espécies listadas.

**[0168]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana da presente divulgação não compreende uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, em pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos cerca de 99%, pelo menos cerca de 99,5% ou cerca de 100% idêntica a uma sequência 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 15, 31, 37, 38, 40, 42, 43, 46, 52-58, 63, 69-71 e 83-101.

**[0169]** Conforme descrito *supra*, o Requerente descobriu que as bactérias que são benéficas para o tratamento de uma doença ou distúrbio associado à disbiose (por exemplo, colite ulcerosa) estão associadas a certas funções biológicas. Por conseguinte, em algumas modalidades, os tipos de bactérias presentes em uma composição bacteriana divulgada neste documento (por exemplo, composições projetadas) estão associados a certas funções biológicas, que são úteis no tratamento, prevenção, retardamento ou melhoria de um ou mais sinais ou sintomas associados a uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, colite ulcerativa). Exemplos não limitativos de características funcionais relevantes são descritos abaixo.

*Recursos funcionais*

**[0170]** Em algumas modalidades da invenção, uma composição de microbioma divulgada neste documento (por exemplo, composições projetadas) é uma composição que inclui bactérias que podem realizar certas funções identificadas pelo requerente como sendo úteis para tratar e/ou prevenir uma doença ou distúrbio associado à disbiose (por exemplo, um IBD, como UC). Em certas modalidades, as espécies bacterianas que são úteis para a presente divulgação compreendem um ou mais dos seguintes recursos: (1) capaz de enxerto (longo prazo e/ou transitório) quando administradas a um sujeito; (2) capaz de ser anti-inflamatório (por exemplo, inibir a secreção de IL-8 induzida por TNF-α em

células epiteliais *in vitro*, capacidade de modular negativamente a expressão de genes inflamatórios (por exemplo, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL11, ICAM1)); (3) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória (por exemplo, não induz a produção de IL-8 por IECs); (4) capaz de produzir ácidos biliares secundários (por exemplo, 7α-desidroxilase e atividade de hidrolase de sal biliar); (5) incapaz de produzir ácido ursodesoxicólico (por exemplo, atividade da 7β-hidroxiesteroide desidrogenase); (6) capaz de produzir metabólitos de triptofano (por exemplo, indol, 3-metil indol, ácido indolepropiônico); (7) capaz de produzir ácidos graxos de cadeia média (valerato e hexanoato) e/ou de cadeia curta (butirato e propionato); (8) capaz de inibir a atividade de HDAC; (9) capaz de restaurar a integridade epitelial, conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira em monocamada de célula epitelial primária; (10) capaz de estar associada à remissão clínica de uma doença inflamatória intestinal; (11) capaz de não estar associada à não remissão clínica de uma doença inflamatória intestinal (12) capaz de expressar atividade da catalase; (13) capaz de ter atividade alfa-fucosidase; (14) capaz de induzir ativação de Wnt; (15) capaz de produzir vitaminas B (por exemplo, tiamina (B1) e piridoxamina (B6)); (16) capaz de modular o metabolismo dos endocanabinoides do hospedeiro; (17) capaz de produzir poliaminas e/ou modular o metabolismo de poliaminas do hospedeiro; 18) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeos; (19) capaz de modular a produção de quinurenina do hospedeiro; (20) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal; (21) incapaz de ativar uma via de receptor tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5); ou (22) capaz de ativar uma via de receptor tipo toll (por exemplo, TLR2). Em certas modalidades, as espécies que são úteis para a presente divulgação compreendem um, dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, doze, treze, quatorze, quinze, dezesseis, dezessete, dezoito, dezenove, vinte, vinte e um, vinte e dois ou todos os recursos acima.

**[0171]** Divulgação adicional relacionada a recursos funcionais exemplificativos é fornecida abaixo.

*Enxerto*

**[0172]** Conforme descrito *supra*, um recurso chave das composições bacterianas divulgadas neste documento é a capacidade de uma ou mais espécies bacterianas (ou OTUs de bactérias) incluídas nas composições para enxertar em

um sujeito quando administrado ao sujeito. Consequentemente, o Requerente identificou bactérias e combinações de bactérias que são capazes de enxertar quando administradas a um sujeito. Para não ser limitado por qualquer teoria, o enxerto de bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento podem repovoar o microbioma gastrointestinal de um sujeito. Em algumas modalidades, uma vez enxertada, as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento evitam (por exemplo, competindo por nutrientes de crescimento) o crescimento de micróbios não comensais (por exemplo, bactérias patogênicas, como *Clostridium difficile*) que podem resultar em respostas inflamatórias no hospedeiro. Em outras modalidades, uma vez enxertadas, as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento podem promover ou aumentar o crescimento de outras bactérias comensais dentro do sujeito. Em outras modalidades, as bactérias de enxerto e combinações de bactérias podem produzir vários fatores (por exemplo, metabólitos de triptofano, ácidos graxos, ácidos biliares secundários) ou exercer outras funções (por exemplo, aquelas divulgadas neste documento) para ajudar a tratar e/ou prevenir um ou mais sintomas associados a uma doença ou distúrbio divulgado neste documento.

**[0173]** Se as bactérias ou combinações de bactérias são capazes de enxerto pode ser determinado por vários métodos conhecidos na técnica. As amostras dos sujeitos podem ser coletadas primeiro (por exemplo, por amostras de fezes completas, esfregaços retais, biópsias de tecido ou amostras de mucosa) antes e/ou após a administração de bactérias ou combinações de bactérias. Posteriormente, essas amostras podem ser caracterizadas para identificar as bactérias ou combinações de bactérias. As cepas bacterianas administradas podem ser identificadas em amostras com base nas propriedades genotípicas, fenotípicas e outras propriedades moleculares das cepas, por exemplo: a) a sequência de certos genes (por exemplo, sequência 16S rRNA) b) a presença e/ou identidade de sequência de uma ou mais regiões de DNA (ou seja, segmentos lineares) que raramente estão presentes em outras cepas, raramente presentes em outras amostras de microbioma, raramente presentes na população de pacientes-alvo ou ausentes do microbioma do (s) sujeito (s) específico (s) antes da administração da bactéria, c) variantes de DNA, incluindo SNVs, inserções e

deleções (ou seja, indels), variação estrutural, variação do número de cópias do gene ou outras variantes de DNA que raramente estão presentes em outras cepas, raramente presentes em outras amostras de microbioma, raramente presentes na população de pacientes alvo, ou ausente do microbioma do (s) sujeito (s) específico (s) antes da administração da bactéria, d) outra identificação fenotípica, genômica, proteômica, metabolômica ou outras propriedades das cepas administradas. As tecnologias moleculares usadas para identificar bactérias administradas ou combinações de bactérias incluem, mas não estão limitadas, a várias tecnologias de sequenciamento de DNA, incluindo PCR e qPCR, sequenciamento de amplicon, sequenciamento de genoma completo, sequenciamento metagenômico shotgun; outras tecnologias moleculares podem ser usadas incluídas, mas não limitadas a microarranjo, nanostring e espectrometria de massa. Métodos bioinformáticos usados para analisar esses dados podem incluir alinhamento e mapeamento de sequência, genoma ou montagem de metagenoma ou outros métodos. Métodos microbiológicos e de cultura também podem ser usados para identificar e caracterizar cepas. Estes métodos mencionados de identificação e caracterização de bactérias administradas ou combinações de bactérias podem ser usados sozinhos ou em combinação.

**[0174]** Em algumas modalidades, uma ou mais das espécies bacterianas incluídas nas composições bacterianas divulgadas neste documento são capazes de enxerto quando administradas a um sujeito. Em certas modalidades, cada uma das espécies bacterianas incluídas em uma composição bacteriana é capaz de enxerto. Em algumas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias que são capazes de enxertar são enxertadoras de longo prazo. Em certas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias que são capazes de enxertar são enxertadores transitórios. Em algumas modalidades, as composições bacterianas divulgadas neste documento (por exemplo, composições projetadas) compreendem um ou mais enxertadores de longo prazo e um ou mais enxertadores transitórios. Em certas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais enxertadores de longo prazo. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais

enxertadores transitórios. Em outras modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreende três ou mais enxertadores transitórios e/ou sete ou mais enxertadores de longo prazo. Exemplos não limitativos de enxertadores de longo prazo e/ou enxertadores transitórios que podem ser usados com a presente divulgação são fornecidos na Tabela 5.

*Ácidos Biliares*

**[0175]** O requerente descobriu que certos ácidos biliares secundários estão associados ao tratamento e/ou prevenção de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados a uma disbiose (por exemplo, remissão de UC). O termo "ácidos biliares" refere-se à uma família de moléculas compostas por uma estrutura esteroide com quatro anéis, uma cadeia lateral de cinco ou oito carbonos terminando em um ácido carboxílico unido na posição 17 da estrutura em andaime esteroide e à presença e orientação de diferentes números de grupos hidróxi. Dependendo do tecido, a estrutura dos ácidos biliares pode variar. Por exemplo, após a sua síntese no fígado, os ácidos biliares são conjugados com resíduos de taurina ou glicina ("ácidos biliares primários conjugados" também conhecidos como ácidos biliares) e subsequentemente excretados e armazenados na vesícula biliar. Durante a digestão, os ácidos biliares primários conjugados são secretados no lúmen intestinal. Em algumas modalidades, os ácidos biliares conjugados primários são ácido glicocólico (gCA), ácido taurocólico (tCA), ácido glicocenodesoxicólico (gCDCA) ou ácido taurochenodesoxicólico (tCDCA).

**[0176]** Dentro do lúmen intestinal, as bactérias intestinais residentes expressam enzimas (por exemplo, hidrolase dos sais biliares (BSH)), que desconjugam os ácidos biliares primários conjugados para produzir "ácidos biliares primários". Em algumas modalidades, os ácidos biliares primários compreendem ácido cólico (CA) ou ácido quenodesoxicólico (CDCA). Os ácidos biliares primários são então processados (por meio de enzimas, como a hidroxiesteroide desidrogenase (HSDH) ou 7α-desidroxilase) para se tornarem "ácidos biliares secundários". Em algumas modalidades, os ácidos biliares secundários compreendem ácido desoxicólico (DCA), ácido (3 ou 12)-oxo-desoxicólico, ácido (3 ou 12)-iso-desoxicólico, ácido (3, 7 ou 12)-oxocólico, ácido (3, 7 ou 12)-isocólico, ácido litocólico (LCA), oxo-LCA, iso-LCA, ácido (3 ou 7)-oxo-quenodesoxicólico, ou

ácido (3 ou 7)-iso-quenodesoxicólico.

**[0177]** Os ácidos biliares secundários produzidos no lúmen intestinal podem circular de volta para o fígado, onde são reconjugados para se tornarem "ácidos biliares secundários conjugados". Em algumas modalidades, os ácidos biliares conjugados secundários da presente divulgação compreendem (3 ou 12) ácido glico-iso-desoxicólico, ácido (3 ou 12)-tauro-iso-desoxicólico, ácido glico-desoxicólico, ácido tauro-desoxicólico, ácido (3, 7 ou 12)-glicoliso-cólico, ácido (3, 7 ou 12)-tauro-iso-cólico, ácido sulfo-litocólico, ácido glico-sulfo-litocólico, ácido tauro-sulfo-litocólico, ácido (3 ou 7)-glico-iso-quenodesoxicólico, ácido (3 ou 7)-tauro-iso-quenodesoxicólico, ácido (3 ou 7)-glico-oxo-quenodesoxicólico, ou ácido (3 ou 7)-tauro-oxo-quenodesoxicólico.

**[0178]** Em algumas modalidades, uma ou mais das espécies bacterianas que podem ser usadas na construção das composições projetadas divulgadas neste documento compreendem uma enzima envolvida na produção de ácido biliar secundário. Em certas modalidades, a enzima compreende BSH ou HSDH. Em algumas modalidades, uma espécie bacteriana útil para a presente divulgação compreende BSH e HSDH. Por conseguinte, em algumas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento podem aumentar o nível de um ácido biliar (por exemplo, um ácido biliar secundário, por exemplo, ácido desoxicólico (DCA), ácido 3-α-12-oxo-desoxicólico, ácido 3- β-12-$\alpha$-desoxicólico (ácido 3-isodeoxicólico), ácido 7-α-3-oxo-quenodeoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxoLCA, oxo-LCA, iso-LCA e combinações destes) em um sujeito.

**[0179]** Em algumas modalidades, o nível de um ácido biliar secundário é aumentado em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um nível correspondente em uma amostra de

referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

**[0180]** Em algumas modalidades, o aumento no nível de um ácido biliar secundário pode reduzir o nível de mediadores pró-inflamatórios (por exemplo, TNF-α ou IL-8) produzidos por células ativadas (por exemplo, monócitos estimulados por LPS, PBMCs estimuladas por LPS ou células epiteliais intestinais estimuladas por TNF-α). Em algumas modalidades, o aumento no nível de um ácido biliar secundário pode aumentar o nível de mediadores anti-inflamatórios (por exemplo, IL-10) produzidos pelas células ativadas. Em algumas modalidades, o aumento no nível de um ácido biliar secundário está correlacionado com uma melhora de pelo menos um aspecto do estado da doença (por exemplo, remissão clínica ou resposta endoscópica/histológica ou níveis reduzidos de calprotectina fecal).

**[0181]** Em certas modalidades, a quantidade de mediadores pró-inflamatórios produzidos por células ativadas é diminuída em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com uma amostra de referência (por exemplo, células ativadas não tratadas com aumento da concentração de um ácido biliar secundário). Em algumas modalidades, o nível de mediadores anti-inflamatórios produzidos é aumentado em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo

menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, em pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100% em comparação com uma amostra de referência (por exemplo, células ativadas não tratadas com concentração aumentada de um ácido biliar secundário).

**[0182]** Em algumas modalidades, a redução do nível de certos ácidos biliares secundários pode ser importante no tratamento eficaz de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento. Um exemplo não limitativo de tal ácido biliar secundário é o ácido ursodesoxicólico. Por conseguinte, em certas modalidades, bactérias e combinações de bactérias que são úteis para a presente divulgação são capazes de reduzir o nível de um ácido biliar secundário em um sujeito. Em algumas modalidades, o nível de um ácido biliar secundário é reduzido em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um nível correspondente em uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

*Atividade Anti-inflamatória*

**[0183]** O requerente identificou bactérias e combinações de bactérias que são capazes de exibir atividade anti-inflamatória quando administradas a um sujeito. Tal conforme usado neste documento, o termo "atividade anti-inflamatória"

refere-se à capacidade de prevenir e/ou reduzir a inflamação. O termo "inflamação" ou "pró-inflamatória" refere-se à resposta biológica complexa do sistema imunológico de um indivíduo a estímulos prejudiciais, tais como patógenos, células danificadas ou irritantes, e inclui a secreção de mediadores pró-inflamatórios, como citocinas pró-inflamatórias, *ou seja*, citocinas que são produzidas predominantemente por células imunes ativadas, como macrófagos e células dendríticas, e estão envolvidas na amplificação de reações inflamatórias.

**[0184]** Sem estar limitado a qualquer teoria particular, a atividade anti-inflamatória observada com as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento pode estar relacionada a outros aspectos funcionais das bactérias ou combinações de bactérias. Por exemplo, em algumas modalidades, a atividade anti-inflamatória está relacionada com a capacidade das bactérias ou combinações de bactérias para produzir um ácido biliar secundário, um metabólito de triptofano, um ácido graxo de cadeia curta, inibir a inibição de HDAC e/ou inibir secreção de IL-8 induzida por TNF-α em células epiteliais *in vitro*. Por conseguinte, em algumas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias que têm atividade anti-inflamatória têm uma ou mais das seguintes características: (i) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ii) capaz de inibir a atividade de histona desacetilase (HDAC), (iii) capaz de inibir a secreção de IL-8 induzida por TNF-α em células epiteliais in vitro, ou (iv) capaz de inibir genes alvo de NF-kB e NF-kB (v) qualquer combinação destes. Se as bactérias ou combinações de bactérias têm atividade anti-inflamatória pode ser medido usando ensaios conhecidos na técnica, incluindo métodos para medir metabólitos como ácidos graxos de cadeia curta (por exemplo, MS, LC-MS, GS-MS, LC-MS/MS), métodos de medição da expressão gênica no nível de RNA e/ou proteína (por exemplo, paineis de citocinas baseados em esferas Luminex, microarranjo, nanostring e sequenciamento de RNA).

**[0185]** Em algumas modalidades, a atividade anti-inflamatória das bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento podem reduzir a quantidade de mediadores pró-inflamatórios produzidos e/ou presentes em um sujeito (por exemplo, sofrendo de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento). Em certas modalidades, a quantidade de mediadores pró-inflamatórios produzidos e/ou presentes no sujeito é diminuída em pelo menos

cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação a uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

**[0186]** Em algumas modalidades, a atividade anti-inflamatória das bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento podem aumentar a quantidade de mediadores anti-inflamatórios em um sujeito. Exemplos não limitativos de mediadores anti-inflamatórios incluem, mas não estão limitados a antagonistas do receptor de IL-1 (IL-1RA), IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, TGF- β, e combinações destes. Em certas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias que são capazes de exibir atividade anti-inflamatória podem aumentar a quantidade de mediadores anti-inflamatórios em um sujeito em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica obtida de um sujeito com um

sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

*Metabolismo do triptofano e receptor de hidrocarboneto de aril*

**[0187]** Tal conforme usado neste documento, o termo "triptofano" refere-se ao aminoácido essencial triptofano, que é um α-aminoácido e tem uma fórmula química de $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Além de seu uso na síntese de proteínas, o triptofano é importante em várias vias que levam à produção de, por exemplo, serotonina (5-hidroxitriptamina), melatonina, quinureninas e triptamina. O triptofano e seus metabólitos podem afetar, por exemplo, imunossupressão, função imunológica, câncer, doença inflamatória, função de barreira epitelial e infecção.

**[0188]** Certos produtos da via do triptofano demonstraram funcionar como agonistas do receptor de hidrocarboneto de aril (Ahr). Os metabólitos incluem, por exemplo, indol, indol-3 aldeído, indol-3 acetato, indol-3 ácido propiônico, indol, 3-metilindol, indol-3 acetaldeído, indol-3 acetonitrila, 6-formilindolo[3,2-b]carbazol (FICZ) e triptamina. Ahr desempenha um papel no controle da diferenciação e atividade de subpopulações de células T específicas. Ele pode influenciar as respostas imunes adaptativas por meio de seus efeitos nas células T e nas células apresentadoras de antígenos (APCs). Acredita-se que Ahr esteja envolvido no desenvolvimento e manutenção de células T reguladoras CD4 + (Tregs), bem como FoxP3- IL-10 + CD4 + Tr1, e na indução de células Th17. Ahr também altera a expressão de citocinas por células linfoides inatas do Tipo 3 (ILC3s). Esses efeitos celulares incluem o aumento da produção de IL-22. Foi relatado que a indução de AhR por metabólitos de Trp aumenta a integridade da barreira epitelial e melhora a colite em modelos in vivo.

**[0189]** Em algumas modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento podem aumentar o nível de um metabólito de triptofano em um sujeito. Em algumas modalidades, o metabólito de triptofano compreende indol, 3-metil indol, indol-acrilato ou qualquer combinação destes. Em certas modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento podem aumentar o nível de indol e/ou 3-metilindol no sujeito.

**[0190]** Em algumas modalidades, o nível de um metabólito de triptofano é aumentado em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos

cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, em pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um nível correspondente em uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

**[0191]** Em algumas modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento podem aumentar o nível de expressão de Cyp1a1 mediada por AhR em um sujeito. Em algumas modalidades, o nível de expressão de Cyp1a1 mediada por AhR é aumentado em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, em pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um nível correspondente em uma referência amostra. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

**[0192]** Sem estar limitado a um mecanismo específico, em algumas modalidades, as bactérias divulgadas neste documento aumentam o nível de expressão de Cyp1a1 mediada por AhR por meio de um aumento na produção de metabólito de triptofano. Em algumas modalidades, o aumento no nível de um metabólito de triptofano (por exemplo, indol ou 3-metilindol) está correlacionado com a melhora de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, remissão clínica). Por conseguinte, em algumas modalidades, o aumento no nível de expressão de Cyp1a1 mediada por AhR está correlacionado com uma ou mais características associadas a uma melhora na condição de um sujeito, por exemplo, um sujeito diagnosticado com uma doença ou distúrbio, como aqueles associados com disbiose (por exemplo, uma IBD, como colite ulcerativa).

**[0193]** Em algumas modalidades, reduzir o nível de um metabólito de triptofano em um sujeito pode ser útil no tratamento de uma doença ou distúrbio. Por conseguinte, em certas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento são capazes de reduzir o nível de um metabólito de triptofano em um sujeito. Em algumas modalidades, o nível de um metabólito de triptofano é reduzido em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um nível correspondente em uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose.

*Ácidos Graxos*

**[0194]** O requerente identificou bactérias e combinações de bactérias que

são capazes de produzir certos ácidos graxos em um sujeito. Em algumas modalidades, os ácidos graxos compreendem ácidos graxos de cadeia curta. Em outras modalidades, os ácidos graxos compreendem ácidos graxos de cadeia média. Conforme usado neste documento, o termo "ácidos graxos de cadeia curta" refere-se a ácidos graxos com menos de seis átomos de carbono. Exemplos não limitativos de ácidos graxos de cadeia curta incluem formato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato e combinações destes. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia curta compreende acetato, propionato, butirato ou combinações destes. Conforme usado neste documento, o termo "ácidos graxos de cadeia média" refere-se a ácidos graxos com caudas alifáticas de 6 a 12 átomos de carbono, que podem formar triglicerídeos de cadeia média. Exemplos não limitativos de ácidos graxos de cadeia média incluem hexanoato, oxtanoato, decanoato, dodecanoato e combinações destes. Em algumas modalidades, o ácido graxo de cadeia média compreende hexanoato.

**[0195]** Em algumas modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento aumentam o nível de um ácido graxo de cadeia curta em um sujeito. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia curta compreende formato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato ou qualquer combinação destes. Em algumas modalidades, o ácido graxo de cadeia curta compreende propionato, butirato, acetato ou combinações destes. Em algumas modalidades, o nível de um ácido graxo de cadeia curta no sujeito é aumentado em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, em pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um correspondente nível em uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras

modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

**[0196]** Em algumas modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento aumentam o nível de um ácido graxo de cadeia média em um sujeito. Em certas modalidades, o ácido graxo de cadeia média compreende hexanoato. Em algumas modalidades, o nível de um ácido graxo de cadeia média no sujeito é aumentado em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, em pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com um correspondente nível em uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica (por exemplo, amostra fecal) obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

*Inibição da atividade da histona desacetilase (HDAC)*

**[0197]** As histonas desacetilases (HDACs) são uma família de enzimas que podem remover resíduos de acetila de sítios específicos na extremidade N-terminal das histonas, que fazem parte da estrutura da cromatina do DNA em células eucarióticas. O estado estacionário de acetilação das histonas é o resultado do equilíbrio da acetilação pelas enzimas histona acetiltransferase (HAT) e da desacetilação pelas HDACs. Quando os HDACs são inibidos, mas a atividade dos HATs continua, as histonas tornam-se hiperacetiladas, interrompendo assim a estrutura da cromatina de alta ordem e estimulando a transcrição pela RNA

polimerase III. O efeito da inibição de HDAC na expressão gênica não é generalizado, pois apenas 2% dos genes de mamíferos são afetados pela inibição de HDAC.

**[0198]** Alguns ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) produzidos pelo microbioma humano intestinal são inibidores de HDAC. O butirato em particular foi identificado como um inibidor de HDAC *in vitro* e *in vivo*, levando ao acúmulo de histonas hiperacetiladas H3 e H4 (Candido *et al.*, 1978 *Cell* 14: 105-113; Boffa *et al.* 1978 *J Biol Chem* 253: 3364-3366; Vidali *et al.* 1978 *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 2239-2243; Davie. 2003 *J Nutrition* 133: 2485S-2493S). Outros SCFAs, como propionato, isobutirato, isovalerato, valerato, lactato e acetato, também podem inibir a desacetilação de histona, embora seja relatado de forma menos eficaz do que o butirato (Sealy e Chalkley. 1978 *Cell* 14: 115-121; Latham *et al. Nucl Acids Res* 40: 4794-4803, Waldecker *et al.* 2008 *J Nutr Biochem* 19: 587-593). Certos efeitos terapêuticos do butirato são mediados, pelo menos em parte, pela inibição de HDACs.

**[0199]** Em algumas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento são capazes de inibir (ou reduzir) a atividade de HDAC. Em algumas modalidades, as bactérias e combinações de bactérias divulgadas neste documento podem inibir (ou reduzir) a atividade de HDAC em um sujeito em pelo menos cerca de 1%, pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 15%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 55%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 65%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou pelo menos cerca de 100%, em comparação com uma amostra de referência. Em algumas modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica obtida de um sujeito antes da administração de uma composição bacteriana divulgada neste documento. Em outras modalidades, a amostra de referência é uma amostra biológica obtida de um sujeito com um sintoma ativo de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose (por exemplo, surto de colite ulcerativa).

**[0200]** Em algumas modalidades, as bactérias divulgadas neste documento que são capazes de inibir a atividade de HDAC podem ser ainda agrupadas em um dos sete clusters fenotípicos (representados como 0-6 na FIG. 13; denominado neste documento "clusters de HDAC") com base em sua capacidade de inibir HDAC atividade quando cultivada em diferentes fontes de nutrientes. Exemplos não limitativos de fontes de nutrientes que podem ser usados incluem, mas não estão limitados a meio de peptona/extrato de levedura (PY) sozinho ou suplementado com 0,5% de uma das sete fontes de C (glicose, fucose, sacarose, amido, pectina, FOS/inulina ou mucina). Tal conforme usado neste documento, "HDAC cluster 0" corresponde a cepas que são capazes de inibir HDAC quando cultivadas em fucose (um açúcar encontrado como um componente de glicoproteínas mucinas), mas não em outros substratos. Essas cepas podem utilizar fucose como substrato para a produção de propionato, mas não aminoácidos presentes no meio basal ou outros carboidratos simples e complexos adicionados em outras condições. "HDAC cluster 1" corresponde a cepas que não são capazes de inibir HDAC quando cultivadas em qualquer uma das fontes de nutrientes divulgadas neste documento. "HDAC cluster 2" corresponde a cepas que são capazes de inibir HDAC e têm inibição reduzida quando cultivadas na presença de sacarose, inulina, glicose ou pectina. "HDAC cluster 3" corresponde a cepas que são capazes de inibir HDAC e têm inibição reduzida quando cultivadas na presença de sacarose, inulina, glicose ou pectina. As cepas pertencentes ao grupo HDAC 3 são capazes de apresentar inibição aumentada de HDAC quando cultivadas na presença de mucina. "HDAC cluster 4" corresponde a cepas que são capazes de inibir HDAC em todas as condições divulgadas neste documento. Além disso, a adição de açúcares, polissacarídeos ou mucina não aumenta ou diminui a atividade de inibição de HDAC dessas cepas. "HDAC cluster 5" corresponde a cepas que são capazes de inibir HDAC quando cultivadas apenas na presença de sacarose, FOS/inulina, glicose, pectina ou amido. "HDAC cluster 6" corresponde a cepas que são capazes de aumentar a inibição de HDAC quando cultivadas na presença de sacarose, FOS/inulina, glicose, pectina ou mucina.

*Outros Recursos Funcionais*

**[0201]** Conforme descrito *supra*, além das funções específicas detalhadas

acima, em algumas modalidades, bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento podem compreender ainda uma ou mais das seguintes características funcionais: (i) capaz de induzir a ativação de Wnt, (ii) capaz de produção de vitaminas B (por exemplo, tiamina (B1) e piridoxamina (B6)), (iii) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoides do hospedeiro, (iv) capaz de produzir poliaminas e/ou modular o metabolismo de poliaminas do hospedeiro, (v) capaz de reduzir níveis fecais de esfingolipídeos, (vi) capaz de modular a produção de quinurenina do hospedeiro, (vii) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, ou (viii) qualquer combinação destes. Em outras modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento não são capazes de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5). Em certas modalidades, as bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento são capazes de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5).

**[0202]** Os níveis de qualquer uma das moléculas biológicas (por exemplo, aquelas descritas acima) em um sujeito que sofre de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (podem ser medidos conforme descrito na presente divulgação (*ver,* por exemplo, Exemplos) ou por quaisquer outros métodos conhecidos na técnica.

**[0203]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana da presente divulgação (por exemplo, composições projetadas) compreende bactérias que são capazes de formar esporos (*ou seja*, bactérias formadoras de esporos). Por conseguinte, em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende uma população purificada de bactérias, em que as bactérias estão na forma de esporos. Em algumas modalidades, todas as bactérias estão na forma de esporos. Em outras modalidades, algumas das bactérias estão na forma de esporos, enquanto outras bactérias não estão na forma de esporos (*ou seja*, estado vegetativo). Em algumas modalidades, a composição bacteriana compreende uma população purificada de bactérias formadoras de esporos, em que as bactérias estão todas no estado vegetativo.

**[0204]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende uma população de bactérias que são sensíveis a um ou mais antibióticos que

podem ser usados em um ser humano. Em algumas modalidades, as bactérias da composição são resistentes a um ou mais antibióticos que são usados para tratar profilaticamente pacientes com uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose do trato gastrointestinal (por exemplo, um IBD ativo (por exemplo, surto de Crohn doença)). Esses antibióticos incluem, mas não estão limitados a, β-lactamas, vancomicina, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e daptomicina.

**[0205]** Em algumas modalidades, a cepa de uma OTU útil para a presente divulgação (por exemplo, uma OTU divulgada neste documento) pode ser obtida a partir de um centro de recursos biológicos públicos, como ATCC (atcc.org), o DSMZ (dsmz.de) ou Riken BioResource Center (en.brc.riken.jp). Os métodos para determinar a identidade de sequência são conhecidos na técnica.

**[0206]** Em algumas modalidades, a composição é uma composição projetada. DE1 é um exemplo de tal composição projetada. Exemplos não limitativos de composições projetadas adicionais são fornecidos nas FIGs. 30, 31 e 32. Tal conforme usado neste documento, o termo "DE1" refere-se a uma composição sintética que consiste em 14 espécies bacterianas formadoras de esporos. *Ver* FIG. 30. DE1 (bem como os outros DEs exemplificativos divulgados neste documento) foi projetado para capturar os principais atributos funcionais e filogenéticos que o requerente identificou como associados à remissão clínica (por exemplo, de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento) e/ou demonstraram ter propriedades que refletem antiatividade inflamatória e/ou aumento da integridade da barreira epitelial. Consequentemente, DE1 integra percepções clínicas de correlatos funcionais e filogenéticos de remissão clínica, juntamente com dados de triagem *in vitro* em fenótipos funcionais de cepas. Especificamente, DE1 foi projetado para fornecer uma composição bacteriana com os seguintes atributos funcionais: a) capacidade metabólica de triptofano, especificamente a capacidade de produzir indol e 3-metilindol, b) capacidade de inibição de HDAC em diversas condições nutricionais (por exemplo , a capacidade de produzir SCFAs), c) a capacidade de produzir ácidos graxos de cadeia média, especificamente valerato e hexanoato, d) produção de ácido desoxicólico (DCA) e ácido litocólico (LCA) a partir de colato e quenodeoxicolato, e) a capacidade de suprimir a indução de IL-8 em células epiteliais intestinais, f) a capacidade de induzir

células T regulatórias e g) a capacidade de ativar a via de sinalização Wnt. Ao garantir que essas propriedades funcionais estão presentes em DE1, a diversidade filogenética e a cobertura de clados filogenéticos associados com a remissão de UC em estudos de FMT foram representados.

***II. Formulações***

**[0207]** Além disso, são fornecidas neste documento formulações para administração a humanos e outros sujeitos em necessidade destas (por exemplo, sujeito que sofre de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento). Geralmente, uma composição bacteriana conforme descrito neste documento é combinada com materiais ativos e/ou inativos adicionais para produzir uma formulação. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana é formulada em uma forma de dosagem unitária, cada forma de dosagem contendo, por exemplo, de cerca de $10^2$ a cerca de $10^9$ esporos, por exemplo, cerca de $10^4$ a cerca de $10^8$ esporos. Em outras modalidades, uma composição bacteriana é formulada em um formato de multidose. A formulação divulgada neste documento pode ser eficaz em uma ampla faixa de dosagem e é geralmente administrada em uma quantidade farmaceuticamente eficaz.

**[0208]** O termo "dose eficaz" ou "dosagem eficaz" é definido como uma quantidade suficiente para alcançar ou pelo menos parcialmente alcançar um efeito desejado. Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" ou "dosagem terapeuticamente eficaz" de uma droga ou agente terapêutico é qualquer quantidade da droga que, quando usada sozinha ou em combinação com outro agente terapêutico, promove a regressão da doença evidenciada por uma diminuição na gravidade dos sintomas da doença, um aumento na frequência e duração dos períodos sem sintomas da doença ou uma prevenção de deficiência ou incapacidade devido à aflição da doença. Uma quantidade ou dosagem terapeuticamente eficaz de uma droga inclui uma "quantidade profilaticamente eficaz" ou uma "dosagem profilaticamente eficaz", que é qualquer quantidade da droga que, quando administrada sozinha ou em combinação com outro agente terapêutico a um sujeito em risco de desenvolver uma doença ou de sofrer uma recorrência da doença, inibe o desenvolvimento ou a recorrência da doença. A capacidade de um agente terapêutico para promover a regressão da doença ou

inibir o desenvolvimento ou recorrência da doença pode ser avaliada usando uma variedade de métodos conhecidos do profissional experiente, como em seres humanos durante os ensaios clínicos, em sistemas de modelo animal preditivos de eficácia em humanos, ou através do ensaio da atividade do agente em ensaios *in vitro*.

**[0209]** Tal conforme usado neste documento, o termo "dosagem" pode referir-se ao número total de unidades formadoras de colônias (CFUs) de cada espécie ou cepa individual; ou pode referir-se ao número total de microrganismos na dose. Entende-se na arte que a determinação do número de organismos em uma dosagem não é exata e pode depender do método usado para determinar o número de organismos presentes. Se a composição incluir esporos, por exemplo, o número de esporos em uma composição pode ser determinado usando um ensaio de ácido dipicolínico (Fichtel *et al.*, *FEMS Microbiol Ecol* 61: 522-532 (2007)). Doses eficazes podem ser extrapoladas a partir de curvas dose-resposta derivadas de sistemas de teste *in vitro* ou de modelo animal.

**[0210]** Conforme usado neste documento, o termo “formas de dosagem unitárias” refere-se a unidades fisicamente discretas apropriadas como dosagens unitárias para sujeitos humanos e outros mamíferos, cada unidade contendo uma quantidade pré-determinada de componente ativo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com um excipiente farmacêutico adequado. Em alguns casos, mais de uma forma de dosagem unitária constitui uma dose. Por exemplo, uma dose única pode ser uma forma de dosagem unitária, duas formas de dosagem unitária, três formas de dosagem unitária, quatro formas de dosagem unitária, cinco formas de dosagem unitária ou mais. Em alguns casos, o número de formas de dosagem unitárias que constituem uma dose única é 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 ou 30 formas de dosagem unitárias. Uma dose única pode ser, por exemplo, cerca de $10^3$ a cerca de $10^9$ esporos, por exemplo, cerca de $10^4$ a cerca de $10^8$ esporos. Em algumas modalidades, uma dose é 1, 2, 3 ou 4 cápsulas contendo um total entre cerca de $10^2$ e cerca de $10^8$ esporos na dose. No caso de uma dose única com múltiplas formas de dosagem, as formas de dosagem são geralmente transmitidas dentro de um período prescrito, por exemplo, dentro de 1 hora, 2 horas, 5 horas, 10 horas, 15 horas ou 24 horas.

**[0211]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende pelo menos um carboidrato. Um "carboidrato" refere-se a um açúcar ou polímero de açúcares. Os termos "sacarídeo", "polissacarídeo", "carboidrato" e "oligossacarídeo" podem ser usados indistintamente. A maioria dos carboidratos são aldeídos ou cetonas com muitos grupos hidroxila, geralmente um em cada átomo de carbono da molécula. Os carboidratos geralmente têm a fórmula molecular $C_nH_{2n}O_n$. Um carboidrato pode ser um monossacarídeo, um dissacarídeo, trissacarídeo, oligossacarídeo ou polissacarídeo. O carboidrato mais básico é um monossacarídeo, como glicose, sacarose, galactose, manose, ribose, arabinose, xilose e frutose. Dissacarídeos são dois monossacarídeos unidos. Exemplos de dissacarídeos incluem sacarose, maltose, celobiose e lactose. Normalmente, um oligossacarídeo inclui entre três e seis unidades de monossacarídeo (por exemplo, rafinose, estaquiose) e os polissacarídeos incluem seis ou mais unidades de monossacarídeo. Exemplos de polissacarídeos incluem amido, glicogênio e celulose. Os carboidratos podem conter unidades de sacarídeo modificadas, como 2′-desoxirribose, em que um grupo hidroxila é removido, 2′-fluororibose, em que um grupo hidroxila é substituído por um flúor ou N-acetilglucosamina, uma forma de glicose contendo nitrogênio (por exemplo, 2′-fluororribose, desoxirribose e hexose). Os carboidratos podem existir em muitas formas diferentes, por exemplo, conformadores, formas cíclicas, formas acíclicas, estereoisômeros, tautômeros, anômeros e isômeros.

**[0212]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende pelo menos um lipídio. Tal conforme usado neste documento, um "lipídio" inclui gorduras, óleos, triglicerídeos, colesterol, fosfolipídios, ácidos graxos em qualquer forma, incluindo ácidos graxos livres. Gorduras, óleos e ácidos graxos podem ser saturados, insaturados (cis ou trans) ou parcialmente insaturados (cis ou trans). Em algumas modalidades, o lipídio compreende pelo menos um ácido graxo selecionado de ácido láurico (12:0), ácido mirístico (14:0), ácido palmítico (16:0), ácido palmitoleico (16:1), ácido margárico (17:0), ácido heptadecenoico (17:1), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18: 1), ácido linoleico (18:2), ácido linolênico (18:3), ácido octadecatetraenoico (18:4), ácido araquidônico (20:0), ácido eicosanoico (20:1), ácido eicosadienoico (20:2), ácido eicosatetraenoico (20:4),

ácido eicosapentaenoico (20:5) (EPA), ácido docosanoico (22:0), ácido docosenoico (22:1), ácido docosapentaenoico (22:5), ácido docosahexaenoico (22:6) (DHA) e ácido tetracosanoico (24:0). Em algumas modalidades, a composição compreende pelo menos um lipídio modificado, por exemplo, um lipídio que foi modificado por cozimento.

**[0213]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende pelo menos um mineral suplementar ou fonte mineral. Exemplos de minerais incluem, sem limitação: cloreto, sódio, cálcio, ferro, cromo, cobre, iodo, zinco, magnésio, manganês, molibdênio, fósforo, potássio e selênio. As formas adequadas de qualquer um dos minerais anteriores incluem sais minerais solúveis, sais minerais ligeiramente solúveis, sais minerais insolúveis, minerais quelatos, complexos minerais, minerais não reativos, tais como minerais carbonilados e minerais reduzidos e combinações destes.

**[0214]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende pelo menos uma vitamina suplementar. A pelo menos uma vitamina pode ser vitaminas solúveis em gordura ou solúveis em água. Vitaminas adequadas incluem, mas não estão limitadas a vitamina C, vitamina A, vitamina E, vitamina B12, vitamina K, riboflavina, niacina, vitamina D, vitamina B6, ácido fólico, piridoxina, tiamina, ácido pantotênico e biotina. Formas adequadas de qualquer uma das vitaminas anteriores são os sais da vitamina, os derivados da vitamina, os compostos com a mesma atividade ou atividade semelhante da vitamina e os metabólitos da vitamina.

**[0215]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende um excipiente. Exemplos não limitativos de excipientes adequados incluem um agente tamponador, um diluente, um conservante, um estabilizador, um ligante, um agente de compactação, um lubrificante, um intensificador de dispersão, um agente de desintegração, um agente aromatizante, um adoçante e um agente corante.

**[0216]** Em algumas modalidades, o excipiente é um agente tamponador. Exemplos não limitativos de agentes tamponadores adequados incluem citrato de sódio, carbonato de magnésio, bicarbonato de magnésio, carbonato de cálcio e bicarbonato de cálcio.

**[0217]** Em algumas modalidades, o excipiente serve como um diluente. Em

tais modalidades, o excipiente pode ser um material sólido, semissólido ou líquido que atua como um veículo, carreador ou meio para o componente ativo (por exemplo, bactérias da composição divulgada neste documento). Desta forma, uma formulação pode estar na forma de, por exemplo, tablete, pílula, pó, pastilha, sachê, comprimido, elixir, suspensão, emulsão, solução, xarope, aerossol (como sólido ou em meio líquido), unguento contendo, por exemplo, até 10% em peso do componente ativo, cápsula mole, cápsula dura, cápsula de gel, tablete, supositório, solução ou pó embalado. Em alguns casos, a maximização da distribuição de bactérias viáveis é aumentada incluindo polímeros gastrorresistentes, intensificadores de adesão ou intensificadores de liberação controlada em uma formulação.

**[0218]** Em algumas modalidades, o excipiente compreende um conservante. Exemplos não limitativos de conservantes adequados incluem antioxidantes, como alfa-tocoferol e ascorbato, e antimicrobianos, como parabenos, clorobutanol e fenol.

**[0219]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende um ligante como um excipiente. Exemplos não limitantes de ligantes adequados incluem amidos, amidos pré-gelatinizados, gelatina, polivinilpirolidona, celulose, metilcelulose, carboximetilcelulose de sódio, etilcelulose, poliacrilamidas, poliviniloxoazolidona, polivinilálcoois, álcool de ácido graxo C12-C18, polietilenoglicol, polióis, sacarídeos, oligossacarídeos e combinações destes.

**[0220]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende um lubrificante como excipiente. Os exemplos não limitativos de lubrificantes adequados incluem estearato de magnésio, estearato de cálcio, estearato de zinco, óleos vegetais hidrogenados, esterotex, monoestearato de polioxietileno, talco, polietilenoglicol, benzoato de sódio, lauril sulfato de sódio, lauril sulfato de sódio e óleo mineral leve.

**[0221]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende um intensificador de dispersão como um excipiente. Exemplos não limitativos de dispersantes adequados incluem amido, ácido algínico, polivinilpirrolidonas, goma guar, caulim, bentonita, celulose de madeira purificada, glicolato de amido de sódio, silicato isoamorfo e celulose microcristalina como surfactantes emulsificantes de alto HLB.

**[0222]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende um desintegrante como excipiente. Em algumas modalidades, o desintegrante é um desintegrante não efervescente. Exemplos não limitativos de desintegrantes adequados não efervescentes incluem amidos como amido de milho, amido de batata, amidos pré-gelatinizados e modificados, adoçantes, argilas, como bentonita, celulose microcristalina, alginatos, glicolato de amido sódico, gomas como ágar, guar, alfarroba, karaya, pectina e tragacanto. Em algumas modalidades, o desintegrante é um desintegrante efervescente. Exemplos não limitativos de agentes de desintegração efervescentes adequados incluem bicarbonato de sódio em combinação com ácido cítrico e bicarbonato de sódio em combinação com ácido tartárico.

**[0223]** Em algumas modalidades, o excipiente compreende um agente aromatizante. Os agentes aromatizantes podem ser escolhidos entre óleos aromatizantes sintéticos e aromatizantes aromáticos e/ou óleos naturais, extratos de plantas, folhas, flores, frutos e combinações destes. Em algumas modalidades, o agente aromatizante é selecionado a partir de óleos de canela, óleo de gualtéria, óleos de hortelã-pimenta, óleo de trevo, óleo de feno, óleo de anis, eucalipto, baunilha, óleo cítrico como óleo de limão, óleo de laranja, óleo de uva e toranja e essências de frutas, incluindo maçã, pêssego, pêra, morango, framboesa, cereja, ameixa, abacaxi e damasco.

**[0224]** Em algumas modalidades, o excipiente compreende um adoçante. Exemplos não limitativos de adoçantes adequados incluem glicose (xarope de milho), dextrose, açúcar invertido, frutose e misturas destes (quando não usado como um carreador); sacarina e seus vários sais, como o sal de sódio; edulcorantes dipeptídicos, tais como aspartame; compostos dihidrocalcona, glicirrizina; Stevia Rebaudiana (esteviosídeo); derivados de cloro de sacarose, tal como sucralose e álcoois de açúcar, tais como sorbitol, manitol, silitol e semelhantes. Também são contemplados os hidrolisados de amido hidrogenado e o adoçante sintético 3,6-di-hidro-6-metil-1,2,3-oxatiazin-4-ona-2,2-dióxido, particularmente o sal de potássio (acessulfame-K) e sódio e sais de cálcio destes.

**[0225]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana compreende um agente corante. Exemplos não limitativos de agentes de cor adequados incluem

alimentos, drogas e cores cosméticas (FD&C), drogas e cores cosméticas (D&C) e drogas externas e cores cosméticas (Ext. D&C). Os corantes podem ser usados como corantes ou lacas correspondentes.

**[0226]** Excipientes adequados adicionais incluem, por exemplo, solução salina, solução salina tamponada com fosfato (PBS), manteiga de cacau, polietilenoglicol, poliálcoois (por exemplo, glicerol, sorbitol ou manitol) e oligossacarídeos prebióticos, como inulina, amido Crystalean® ou dextrina. Excipientes também podem ser selecionados para contabilizar, pelo menos em parte, a capacidade das OTUs em uma composição particular de suportar o pH gástrico (se for distribuído oralmente ou diretamente ao trato GI) e/ou ácidos biliares ou outras condições encontradas a formulação na distribuição a um sujeito (por exemplo, um paciente com colite ulcerativa).

**[0227]** A fração em peso do excipiente ou combinação de excipientes na formulação normalmente é de cerca de 99% ou menos, cerca de 95% ou menos, cerca de 90% ou menos, cerca de 85% ou menos, cerca de 80% ou menos, sobre 75% ou menos, cerca de 70% ou menos, cerca de 65% ou menos, cerca de 60% ou menos, cerca de 55% ou menos, cerca de 50% ou menos, cerca de 45% ou menos, cerca de 40% ou menos, cerca de 35% ou menos, cerca de 30% ou menos, cerca de 25% ou menos, cerca de 20% ou menos, cerca de 15% ou menos, cerca de 10% ou menos, cerca de 5% ou menos, cerca de 2% ou menos ou cerca de 1% ou menos do peso total da composição.

**[0228]** Na preparação de uma formulação da presente divulgação, a composição bacteriana pode ser moída para fornecer o tamanho de partícula apropriado antes de combinar com os outros ingredientes, por exemplo, aqueles descritos neste documento. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana é formulada de modo a fornecer liberação rápida, sustentada ou retardada do componente ativo após a administração a um sujeito, por exemplo, para liberação no cólon, empregando métodos e formas conhecidas na técnica.

**[0229]** As composições bacterianas divulgadas neste documento podem ser formuladas em uma variedade de formas e administradas por uma série de meios diferentes. Uma composição bacteriana pode ser administrada por via oral, retal ou parenteral, em formulações contendo carreadores, adjuvantes e veículos

convencionalmente aceitáveis, conforme desejado. O termo "parenteral" conforme usado neste documento inclui injeções subcutâneas, intravenosas, intramusculares, intrasternais ou técnicas de infusão. Em um exemplo de modalidade, a composição bacteriana é administrada por via oral.

**[0230]** Formas de dosagem sólidas para administração oral incluem cápsulas, comprimidos, pílulas, pós e grânulos. Uma cápsula normalmente compreende um material do núcleo que compreende uma composição bacteriana e uma parede de invólucro que encapsula o material do núcleo. Em algumas modalidades, o material do núcleo compreende pelo menos um dentre um sólido, um líquido e uma emulsão. Em algumas modalidades, o material da parede do invólucro compreende pelo menos um dentre uma gelatina mole, uma gelatina dura e um polímero. Polímeros adequados incluem, mas não estão limitados a: polímeros celulósicos, tais como hidroxipropilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), metilcelulose, etilcelulose, acetato de celulose, acetato ftalato de celulose, trimelitato de acetato de celulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose succinato e carboximetilcelulose sódica; polímeros e copolímeros de ácido acrílico, tais como aqueles formados a partir de ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilato de metila, metilacrilato de amônio, acrilato de etila, metacrilato de metila e/ou metacrilato de etila (por exemplo, aqueles copolímeros vendidos sob o nome comercial "Eudragit"); polímeros e copolímeros de vinil, tais como polivinilpirrolidona, acetato de polivinil, ftalato de polivinilacetato, copolímero de ácido crotônico de acetato de vinil e copolímeros de etileno-acetato de vinil; e goma-laca (laca purificada). Em algumas modalidades, pelo menos um polímero funciona como agente de mascaramento de sabor.

**[0231]** Comprimidos, pílulas e semelhantes podem sofrer compressão, serem multicamadas e/ou revestidos. O revestimento pode ser único ou múltiplo. Em algumas modalidades, o material de revestimento compreende pelo menos um dentre um sacarídeo, um polissacarídeo e glicoproteínas extraídas de pelo menos um dentre uma planta, um fungo e um micróbio. Exemplos não limitativos incluem amido de milho, amido de trigo, amido de batata, amido de tapioca, celulose, hemicelulose, dextranos, maltodextrina, ciclodextrinas, inulinas, pectina, mananos,

goma arábica, goma de alfarroba, goma de algaroba, goma guar, goma karaya, goma ghatti, goma tragacanto, funori, carrageninas, ágar, alginatos, quitosanos ou goma gelana. Em algumas modalidades, o material de revestimento compreende uma proteína. Em algumas modalidades, o material de revestimento compreende pelo menos um dentre uma gordura e um óleo. Em algumas modalidades, pelo menos um dentre uma gordura e um óleo é de fusão a alta temperatura. Em algumas modalidades, pelo menos um dentre uma gordura e um óleo é hidrogenado ou parcialmente hidrogenado. Em algumas modalidades, o pelo menos um componente dentre uma gordura e um óleo é derivado de uma planta. Em algumas modalidades, o pelo menos um componente dentre uma gordura e um óleo compreende pelo menos um dentre glicerídeos, ácidos graxos livres e ésteres de ácidos graxos. Em algumas modalidades, o material de revestimento compreende pelo menos uma cera comestível. A cera comestível pode ser derivada de animais, insetos ou plantas. Exemplos não limitativos incluem cera de abelha, lanolina, cera de bayberry, cera de carnaúba e cera de farelo de arroz.

**[0232]** Em algumas modalidades, um tablete ou pílula compreende um componente interno em torno da composição e um componente externo, este último servindo como um envelope sobre o primeiro. Os dois componentes podem ser separados por uma camada entérica de revestimento que pode resistir à desintegração no estômago e permite que o componente interno passe intacto para o duodeno ou para ser retardado na liberação.

**[0233]** Alternativamente, pós ou grânulos que incorporam uma composição bacteriana divulgada neste documento podem ser incorporados em um produto alimentar. Em algumas modalidades, o produto alimentar é uma bebida para administração oral. Exemplos não limitativos de uma bebida adequada incluem suco de fruta, uma bebida de fruta, uma bebida com sabor artificial, uma bebida adoçada artificialmente, uma bebida gaseificada, uma bebida esportiva, um produto derivado do leite, uma batida, uma bebida alcoólica, uma bebida com cafeína, fórmula infantil e assim por diante. Outros meios adequados para administração oral incluem soluções aquosas e não aquosas, emulsões, suspensões e soluções e/ou suspensões reconstituídas a partir de grânulos não efervescentes, contendo pelo menos um dos solventes adequados, conservantes, agentes emulsionantes,

agentes de suspensão, diluentes, adoçantes, agentes corantes e agentes aromatizantes.

**[0234]** Em algumas modalidades, o produto alimentar é um alimento sólido. Exemplos adequados de um alimento sólido incluem, sem limitação, uma barra de alimentos, uma lanchonete, um biscoito, um brownie, um muffin, um biscoito, um picolé, uma barra de iogurte congelado e semelhantes.

**[0235]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento é incorporada a um alimento terapêutico. Em algumas modalidades, o alimento terapêutico é um alimento pronto para uso que contém opcionalmente alguns ou todos os macronutrientes e micronutrientes essenciais. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento é incorporada a um alimento suplementar que é projetado para ser misturado a uma refeição existente. Em algumas modalidades, o alimento suplementar contém alguns ou todos os macronutrientes e micronutrientes essenciais. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento é misturada com ou adicionada a um alimento existente para fortalecer a nutrição proteica do alimento. Os exemplos incluem alimentos básicos (grãos, sal, açúcar, óleo de cozinha, margarina), bebidas (café, chá, refrigerante, cerveja, licor, bebidas esportivas), lanches, doces e outros alimentos.

**[0236]** Em algumas modalidades, as formulações são preenchidas em cápsulas de gelatina para administração oral. Um exemplo de uma cápsula apropriada é uma cápsula de gelatina de 250 mg contendo de 10 (até 100 mg) de pó liofilizado ($10^8$ a $10^{11}$ de bactérias), 160 mg de celulose microcristalina, 77,5 mg de gelatina e 2,5 mg de estearato de magnésio. Em outras modalidades, de cerca de $10^5$ a cerca de $10^{12}$ de bactéria podem ser usadas, cerca de $10^5$ a cerca de $10^7$, cerca de $10^6$ a cerca de $10^7$, ou cerca de $10^8$ a cerca de $10^{10}$, com ajustes concomitantes dos excipientes, se necessário. Em outras modalidades, uma cápsula ou comprimido com revestimento entérico ou com um tampão ou composição protetora pode ser usado. O uso de polímeros entéricos (tais como aqueles usados para revestir uma cápsula ou comprimido descrito neste documento) pode ser útil ao formular uma composição bacteriana divulgada neste documento para administração oral. Em certas modalidades, os polímeros

entéricos permitem uma distribuição mais eficiente das composições bacterianas divulgadas neste documento ao trato gastrointestinal de um sujeito. Em algumas modalidades, a cápsula ou comprimido com revestimento entérico libera seu conteúdo (*ou seja*, bactérias ou combinações de bactérias divulgadas neste documento) quando o pH se torna alcalino após a cápsula ou comprimido com revestimento entérico passar pelo estômago. Quando uma composição sensível ao pH (por exemplo, polímeros entéricos) é usada para formular a composição bacteriana, a composição sensível ao pH é preferencialmente um polímero cujo limite de pH da decomposição da composição é de 6,8 a 7,5. Essa faixa de valor numérico é uma faixa em que o pH muda em direção ao lado alcalino em uma porção distal do estômago e, portanto, é uma faixa adequada para uso na distribuição ao cólon.

**[0237]** Além disso, uma abordagem para melhorar a distribuição de uma composição bacteriana divulgada neste documento ao cólon pode incluir especificamente uma composição que garante a distribuição ao trato gastrointestinal, retardando a liberação do conteúdo em aproximadamente 3 a 5 horas, o que corresponde ao tempo de trânsito no intestino delgado. Em um exemplo de formulação de uma preparação farmacêutica compreendendo a composição para retardar a liberação, um hidrogel é usado como uma casca. O hidrogel é hidratado e incha ao entrar em contato com o fluido gastrointestinal, para que o conteúdo seja efetivamente liberado. Além disso, as unidades de dosagem de liberação retardada incluem composições contendo droga tendo um material que reveste ou reveste seletivamente uma droga. Exemplos de tal material de revestimento seletivo incluem polímeros degradáveis in vivo, polímeros gradualmente hidrolisáveis, polímeros gradualmente solúveis em água e/ou polímeros degradáveis por enzima. Um material de revestimento preferido para retardar eficientemente a liberação não é particularmente limitado, e exemplos dos mesmos incluem polímeros à base de celulose, como hidroxipropilcelulose, polímeros de ácido acrílico e copolímeros, como polímeros e copolímeros de ácido metacrílico, e polímeros de vinil e copolímeros, como polivinilpirrolidona.

**[0238]** Composições adicionais que visam a distribuição ao cólon incluem composições bioadesivas que aderem especificamente à membrana mucosa do

cólon (por exemplo, um polímero descrito no relatório descritivo da Patente U.S. Nº 6.368.586) e composições nas quais um inibidor de protease é incorporado para proteger particularmente uma composição bacteriana divulgada neste documento nos tratos gastrointestinais da decomposição devido a uma atividade de uma protease.

**[0239]** Um mecanismo adicional de distribuição do cólon é através da mudança de pressão, de modo que o conteúdo é liberado do cólon pela geração de gás na fermentação bacteriana em uma porção distal do estômago. Essa alteração de pressão não é particularmente limitada e um exemplo mais específico desta é uma cápsula que tem conteúdos dispersos em uma base de supositório e que é revestida com um polímero hidrofóbico (por exemplo, etilcelulose).

**[0240]** Uma outra composição para distribuição ao cólon inclui, por exemplo, uma composição bacteriana divulgada neste documento compreendendo um componente que é sensível a uma enzima (por exemplo, uma hidrolase de carboidrato ou uma redutase de carboidrato) presente no cólon. Essa composição não é particularmente limitada e exemplos mais específicos destas incluem composições que usam componentes alimentares, tais como polissacarídeos não amiláceos, amilose, goma de xantana e azopolímeros.

**[0241]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento é formulada com um germinante para aumentar o enxerto ou eficácia. Em algumas modalidades, uma composição bacteriana é formulada ou administrada com uma substância prebiótica para aumentar o enxerto ou eficácia.

**[0242]** Em algumas modalidades, o número de bactérias de cada tipo pode estar presente no mesmo nível ou quantidade ou em níveis ou quantidades diferentes. Por exemplo, em uma composição bacteriana com dois tipos de bactérias, a bactéria pode estar presente em cerca de uma razão de 1:10.000 a cerca de uma razão de 1:1, de uma razão de cerca de 1:10.000 a uma razão de cerca de 1:1.000, de uma razão de cerca de 1:1.000 a uma razão de cerca de 1:100, de uma razão de cerca de 1:100 a uma razão de cerca de 1:50, de uma razão de cerca de 1:50 a uma razão de cerca de 1:20, de uma razão de cerca de 1:20 a uma razão de cerca de 1:10, de uma razão de cerca de 1:10 a uma razão de cerca de 1:1. Para composições bacterianas compreendendo pelo menos três tipos de

bactérias, a razão do tipo de bactéria pode ser escolhida aos pares a partir das razões para composições bacterianas com dois tipos de bactérias. Por exemplo, em uma composição bacteriana que compreende as bactérias A, B e C, pelo menos uma da razão entre as bactérias A e B, a razão entre as bactérias B e C e a razão entre as bactérias A e C podem ser escolhidas, independentemente, das combinações de pares acima.

### *III. Métodos de Tratamento de um Sujeito*

**[0243]** As composições e formulações divulgadas neste documento podem ser usadas para o tratamento e/ou prevenção de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose de um trato gastrointestinal (por exemplo, uma IBD, por exemplo, colite ulcerativa), por exemplo, melhorando um ou mais sinais ou sintomas da doença (por exemplo, induzir remissão clínica) e/ou para reduzir a recorrência da doença ativa (por exemplo, manter a remissão clínica).

**[0244]** Os termos "tratar", "tratando" e "tratamento", tal conforme usado neste documento, referem-se a qualquer tipo de intervenção ou processo realizado em, ou administrando um agente ativo a, o sujeito com o objetivo de reverter, aliviar, melhorar, inibir, ou desacelerar ou prevenir a progressão, desenvolvimento, gravidade ou recorrência de um sintoma, complicação, condição ou indícios bioquímicos associados a uma doença ou aumento da sobrevida geral. O tratamento pode incluir a redução de pelo menos um sinal ou sintoma associado a uma doença ou distúrbio divulgado neste documento, por exemplo, colite ulcerativa. O tratamento pode ser de um sujeito com uma doença ou um sujeito que não tem uma doença (por exemplo, para profilaxia). Entende-se que "prevenir" pode significar reduzir o risco de doença, aumentar a duração da remissão ou reduzir a taxa de recaída.

**[0245]** Em algumas modalidades, o tratamento com uma formulação está associado a pelo menos um dos seguintes: (i) um aumento na diversidade do microbioma gastrointestinal (GI) em um sujeito, (ii) uma redução na inflamação GI em um sujeito, (iii) melhora na integridade da barreira mucosa e/ou epitelial em um sujeito em comparação com um controle de referência (por exemplo, pacientes não tratados ou o sujeito antes do tratamento), (iv) promoção da cicatrização da mucosa e (v) outras melhorias de pelo menos um sinal ou sintoma de uma doença ou

distúrbio divulgado neste documento. Essas melhorias também podem incluir, por exemplo, melhorias detectadas por meio de biomarcadores, como uma diminuição ou aumento no nível de certas moléculas biológicas (por exemplo, calprotectina fecal, ácidos biliares secundários, metabólitos de triptofano, ácidos graxos de cadeia curta e média, esfinolípidos e quinurenina) após o tratamento.

**[0246]** Em algumas modalidades, ao tratar um sujeito que sofre de uma doença inflamatória (por exemplo, colite ulcerativa), uma melhora na doença, como a cura da mucosa, pode ser avaliada por uma redução no escore endoscópico de Mayo. Os escores de Mayo são conhecidos na técnica, por exemplo*, ver* globalrph.com/mayo_clinic_score.htm. Uma redução no escore total de Mayo de um escore de pré-tratamento (*ou seja*, linha de base) e/ou melhorias no sangramento retal e/ou subescores endoscópicos são indicativos de um efeito terapêutico.

**[0247]** Em algumas modalidades, a taxa de melhoria (por exemplo, taxa de remissão clínica) após o tratamento com uma formulação divulgada neste documento é de pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 25%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou cerca de 100%. Em algumas modalidades, a taxa de melhoria (por exemplo, taxa de remissão clínica) é melhorada em comparação com o placebo, por exemplo, pelo menos 25% versus 10%, respectivamente. Em algumas modalidades, a remissão clínica é um escore de Mayo de $\leq$2 pontos, sem subescore individual >1.

**[0248]** Em algumas modalidades, a resposta clínica ao tratamento com uma formulação da presente divulgação é melhorada em relação ao placebo, por exemplo, pelo menos 25% em comparação com 10%, respectivamente. Ao tratar um sujeito que sofre de uma doença inflamatória, por exemplo, colite ulcerativa, a cicatrização da mucosa é definida como 0 ou 1 no subescore da endoscopia do escore de Mayo. Uma resposta clínica é, em algumas modalidades, uma diminuição da linha de base no escore de Mayo em $\geq$30% e/ou $\geq$3 pontos, acompanhada por uma diminuição no subescore de sangramento retal de $\geq$1 ou um subtotal de

sangramento retal de 0 ou 1. Em algumas modalidades, a resposta é definida como uma diminuição de ≥3 pontos no Escore Total Modificado de Mayo (Total Modified Mayo Score - TMMS) da linha de base, junto com pelo menos um de uma diminuição de >1 ponto no subtotal de sangramento retal ou subescore de sangramento retal absoluto de 0 ou 1. A remissão completa é definida como um TMMS <2 e um subescore endoscópico de 0 sem eritema, sem sangue e sem evidência de inflamação. A melhora endoscópica é definida como uma diminuição no subescore endoscópico >1.

**[0249]** As formulações divulgadas neste documento (por exemplo, compreendendo uma composição bacteriana projetada) podem ser usadas para tratar qualquer doença ou distúrbio associado a uma disbiose do trato gastrointestinal. Exemplos não limitativos de tais doenças ou distúrbios são fornecidos ao longo da presente divulgação.

**[0250]** As formulações descritas neste documento são úteis para administração a um sujeito, por exemplo, um mamífero, tal como um humano em necessidade de tratamento, por exemplo, para prevenir ou tratar uma doença ou distúrbio divulgado neste documento ou um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento ou para prevenir a recorrência de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento. Em algumas modalidades, o sujeito mamífero é um sujeito humano. Em algumas modalidades, o sujeito humano (por exemplo, paciente) tem um ou mais sinais ou sintomas de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados a uma disbiose. Exemplos não limitativos de tais sinais ou sintomas podem incluir, mas não estão limitados a, diarreia (por exemplo, contendo sangue ou pus); dor abdominal e cólicas; dor retal; sangramento retal; urgência para defecar; incapacidade de defecar apesar da urgência; perda de peso; fadiga; febre; falha em crescer (em crianças); sangramento severo; cólon perfurado; desidratação severa; doença hepática; osteoporose; inflamação da pele, articulações ou olhos; aftas; aumento do risco de câncer de cólon; megacólon tóxico; ou risco aumentado de coágulos sanguíneos nas veias e artérias. Um tratamento terapeuticamente eficaz usando uma formulação fornecida neste documento pode melhorar um ou mais de tais sinais e sintomas de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento. Em algumas modalidades, o paciente está

em remissão e a composição microbiana é administrada para aumentar a duração da remissão por meio da terapia de manutenção.

**[0251]** A eficácia de um tratamento pode ser determinada avaliando sinais e ou sintomas e de acordo com se a indução de melhora e/ou manutenção de uma remissão ou condição melhorada é alcançada, por exemplo, por pelo menos cerca de 1 semana, pelo menos cerca de duas semanas, pelo menos cerca de três semanas, pelo menos cerca de quatro semanas, pelo menos cerca de 8 semanas, ou pelo menos cerca de 12 semanas. Por exemplo, nos casos de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, colite), a cicatrização da mucosa (conforme avaliada endoscopicamente, histologicamente ou por meio de técnicas de imagem) pode ser usada para avaliar a eficácia de um tratamento. Em certas modalidades, tal abordagem pode ser particularmente útil para prever o resultado clínico de longo prazo em um sujeito diagnosticado com a doença ou distúrbio. A remissão ou sinais ou sintomas podem ser determinados usando índices clínicos, como, para a doença de Crohn, o Índice de Atividade da Doença de Crohn (CDAI), o PCDAI, ou a melhoria ou um ou mais elementos do PCDAI ou CDAI, por exemplo, número de fezes líquidas ou moles, dor abdominal, bem-estar geral, presença de complicações (como artralgia ou artrite, uveíte; inflamação da íris; presença de eritema nodoso, pioderma gangrenoso ou úlceras aftosas; fissuras anais, fístulas ou abscessos; outras fístulas, ou febre), em uso de opiáceos ou difenoxilato/atropina para diarreia, presença de massa abdominal, hematócrito <0,47 (homens) ou <0,42 (mulheres); ou desvio percentual do peso padrão. Em algumas modalidades, um sujeito tratado de acordo com um método descrito neste documento atinge e/ou permanece em um CDAI abaixo de 150. Em algumas modalidades, uma resposta positiva a um método é uma redução do CDAI de um sujeito em pelo menos 70 pontos.

**[0252]** Para a colite ulcerativa, as indicações de eficácia terapêutica incluem, por exemplo, normalização da frequência de fezes, falta de urgência ou ausência de sangue nas fezes. A melhora clínica (por exemplo, remissão clínica) é considerada alcançada se pelo menos um sinal ou sintoma for reduzido após a conclusão do tratamento. A cicatrização da mucosa é um exemplo de medida de melhora clínica. Outros sinais/sintomas podem incluir normalização da proteína C

reativa e/ou outros indicadores de fase aguda, diminuição dos níveis de calprotectina fecal e/ou lactoferrina e indícios subjetivos, como aqueles relacionados à qualidade de vida. Outros exemplos de indícios podem incluir melhora de moderada a leve usando a Classificação de Montreal, o Escore de Mayo (com ou sem subtotal de endoscopia) ou o Índice de Colite Ulcerativa Pediátrica. Em geral, os métodos e composições descritos neste documento são úteis para o tratamento de um sujeito com diagnóstico de colite.

**[0253]** Outros indicadores de eficácia de uma composição terapêutica e/ou método para o tratamento de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados à disbiose, incluem o enxerto de pelo menos uma espécie bacteriana ou OTU identificada em uma composição de microbioma, por exemplo, em cerca de 2 semanas, cerca de 3 semanas, cerca de 4 semanas, cerca de 5 semanas, cerca de 6 semanas, cerca de 7 semanas, cerca de 8 semanas, cerca de 9 semanas, cerca de 10 semanas, cerca de 11 semanas, cerca de 12 semanas ou mais após a dosagem inicial com a composição do microbioma; remissão clínica em 0 semanas, cerca de 1 semana, cerca de 4 semanas, cerca de 5 semanas, cerca de 6 semanas, cerca de 7 semanas, cerca de 8 semanas, cerca de 9 semanas, cerca de 10 semanas, cerca de 11 semanas, cerca de 12 semanas ou mais após o início dosagem com a composição do microbioma (por exemplo, para colite, um escore Mayo <= 2 sem subescore >1); ou remissão endoscópica em 0 semanas, cerca de 1 semana, cerca de 4 semanas, cerca de 5 semanas, cerca de 6 semanas, cerca de 7 semanas, cerca de 8 semanas, cerca de 9 semanas, cerca de 10 semanas, cerca de 11 semanas, cerca de 12 semanas ou mais após dosagem inicial com a composição do microbioma (por exemplo, para colite, escore de endoscopia de Mayo de 0).

**[0254]** Em algumas modalidades, o tratamento com uma formulação divulgada neste documento pode melhorar uma disbiose, incluindo, mas não se limitando a, uma melhoria na representação de uma ou mais OTUs identificadas como reduzidas em uma população de sujeitos que sofrem de uma doença ou distúrbio associado à disbiose (por exemplo, pacientes com UC com doença ativa). Em algumas modalidades, o tratamento com uma formulação da presente divulgação pode reduzir a representação de uma ou mais espécies microbianas

que estão associadas a uma doença ou distúrbio divulgado neste documento.

**[0255]** Em algumas modalidades, o tratamento com uma formulação divulgada neste documento pode aumentar a representação de espécies microbianas que estão associadas a uma melhora (por exemplo, remissão clínica) de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento.

**[0256]** Em algumas modalidades, uma formulação pode aumentar a prevalência de uma ou mais das seguintes espécies bacterianas em um sujeito que sofre de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, no microbioma GI)): *Gemmiger formicilis*, *Roseburia hominis*, *Clostridium bolteae*, *Parasutterella excrementihominis*, *Holdemania filiformis*, *Holdemania massiliensis*, *Bacteroides ovatus*, *Akkemansia muciniphila*, *Clostridium leptum*, *Bilophila wadsworthia*, *Dielma fastidiosa*, *Clostridium symbiosum*, *Eubacterium siraeum*, *Agathobaculum desmolans*, *Agathobaculum butyriciproducens*, ou *Bacteroides vulgatus*, ou *Flintibacter SC49*. Em algumas modalidades, uma formulação divulgada neste documento pode aumentar a prevalência de uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Gemmiger formicilis*, *Roseburia hominis*, *Clostridium bolteae, Holdemania filiformis*, *Holdemania massiliensis*, *Clostridium leptum*, *Dielma fastidiosa*, *Clostridium symbiosum*, *Eubacterium siraeum*, e combinações destes. Em certas modalidades, uma formulação que compreende uma composição projetada divulgada neste documento pode aumentar a prevalência de uma ou mais bactérias selecionadas daquelas divulgadas na Tabela 4, Tabela 5, FIG. 13, FIG. 17, FIG. 30, FIG. 31 e/ou FIG. 32. Em algumas modalidades, uma formulação pode aumentar a prevalência de uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos cerca de 99%, pelo menos cerca de 99,5% ou cerca de 100% idêntica a uma sequência de rDNA 16S estabelecida em SEQ ID NOs: 1-14, 16-30, 32-36, 39, 41, 44, 45, 47-51, 59-62, 64-68, 72-76 e 102-398 ou qualquer uma das espécies anteriores.

**[0257]** Em algumas modalidades, uma formulação divulgada neste documento pode aumentar, em um paciente tratado, a representação de um ou

mais filos, gêneros ou espécies bacterianas, tais como o clado 155, por exemplo, *Bacteroides faecis*, que são reduzidos em sujeitos que sofrem de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento.

**[0258]** Em algumas modalidades, o tratamento com uma formulação divulgada neste documento pode melhorar uma função GI que é reduzida ou de outra forma aberrante em sujeitos que têm uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, UC). Em algumas modalidades, uma formulação divulgada neste documento pode aumentar ou diminuir o nível de certas moléculas biológicas (por exemplo, calprotectina fecal, ácidos biliares secundários, metabólitos de triptofano, ácidos graxos de cadeia curta e média, esfingolipídios e quinurenina) em um sujeito tratado. Em algumas modalidades, o aumento ou diminuição de tais moléculas biológicas estão correlacionadas com uma melhora da doença (por exemplo, remissão clínica).

**[0259]** As formulações divulgadas neste documento podem ser úteis em uma variedade de situações clínicas. Por exemplo, a formulação pode ser administrada como um tratamento complementar aos regimes de tratamento padrão para uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento. Em algumas modalidades, as formulações da presente divulgação podem ser administradas como uma alternativa aos regimes de tratamento padrão. Em algumas modalidades, a formulação divulgada nesse documento tem uma eficácia clínica comparável, senão melhor, (por exemplo, taxa de remissão clínica) em comparação com regimes de tratamento padrão (por exemplo, antibióticos ou anti-inflamatórios, por exemplo, LIALDA®, PENTASA®, UCERIS®, REMICADE®, ENTYVIO®, SIMPONI®). Em algumas modalidades, as formulações da presente divulgação podem ser administradas simultaneamente com regimes de tratamento padrão para aumentar sua atividade. Em algumas modalidades, as formulações da presente divulgação podem ser administradas simultaneamente com regimes de tratamento padrão sem exacerbar seu perfil de eventos adversos.

**[0260]** Em algumas modalidades, um sujeito a ser tratado com uma formulação tem doença ou distúrbio leve a moderado, como aqueles divulgados neste documento (por exemplo, colite ulcerativa, por exemplo, um score de Mayo de ≥4 e ≤10). Em algumas modalidades, o paciente está falhando no padrão de

atendimento. Em algumas modalidades, a formulação é usada para manter a remissão clínica ou benefício clínico em um paciente com doença moderada a grave sendo tratado com um imunomodulador ou imunossupressor, incluindo tratamentos anti-TNF, anti-IL23, anti-integrina ou outros anticorpos.

**[0261]** Em algumas modalidades, um sujeito recebe um protocolo de pré-tratamento antes da administração da formulação, em que o protocolo de pré-tratamento prepara o trato gastrointestinal para receber a composição bacteriana. Em certas modalidades, o protocolo de pré-tratamento compreende um tratamento com antibiótico oral, em que o tratamento com antibiótico altera a bactéria no paciente. Em modalidades específicas, o antibiótico não é absorvido pelo intestino ou está minimamente biodisponível para distribuição sistêmica. Em outras modalidades, o protocolo de pré-tratamento compreende uma limpeza do cólon (por exemplo, enema), em que a limpeza do cólon esvazia substancialmente o conteúdo do cólon do paciente. Tal como utilizado neste documento, "esvaziar substancialmente o conteúdo do cólon" refere-se à remoção de pelo menos cerca de 75%, pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95% ou cerca de 100% do conteúdo do volume normal de conteúdo do cólon. O tratamento com antibióticos pode preceder o protocolo de limpeza do cólon.

**[0262]** Em algumas modalidades, um protocolo de pré-tratamento é administrado a um sujeito pelo menos 1 dia, 2 dias, 3 dias, 5 dias, 6 dias, 7 dias, 10 dias ou 15 dias antes da administração de uma formulação descrita neste documento. Em algumas modalidades, o sujeito recebe múltiplas doses de uma formulação. Em algumas modalidades, o sujeito tem pelo menos um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento antes da administração da formulação. Em outras modalidades, o sujeito não exibe um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento antes da administração da formulação, por exemplo, a formulação é administrada profilaticamente para reduzir o risco de um sinal ou sintoma de uma doença ou distúrbio, como as divulgadas neste documento.

**[0263]** Em algumas modalidades, uma formulação descrita neste documento é administrada entericamente, em outras palavras, por uma via de acesso ao trato gastrointestinal. Isso inclui a administração oral, administração retal (incluindo

enema, supositório ou colonoscopia), por um tubo oral ou nasal (nasogástrico, nasojejunal, gástrico oral ou jejunal oral) ou qualquer outro método conhecido na técnica.

**[0264]** Em algumas modalidades, uma formulação é administrada a pelo menos uma região do trato gastrointestinal, incluindo a boca, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e reto. Em outras modalidades, uma formulação é administrada a todas as regiões do trato gastrointestinal. Em certas modalidades, uma formulação é administrada por via oral na forma de medicamentos, como pós, cápsulas, comprimidos, géis ou líquidos. Uma formulação também pode ser administrada na forma de gel ou líquido por via oral ou por meio de um tubo nasogástrico ou por via retal na forma de gel ou líquida, por enema ou instilação por meio de um colonoscópio ou por um supositório.

**[0265]** Em algumas modalidades, as bactérias e as composições bacterianas são fornecidas em uma forma de dosagem. Em algumas modalidades, a forma de dosagem é projetada para administração de pelo menos uma OTU ou combinação das mesmas divulgada neste documento, em que a quantidade total da composição bacteriana administrada é selecionada de cerca de 0,1 ng a cerca de 10 g, cerca de 10 ng a cerca de 1 g, cerca de 100 ng a cerca de 0,1 g, cerca de 0,1 mg a cerca de 500 mg, cerca de 1 mg a cerca de 1000 mg, de cerca de 1000 a cerca de 5000 mg ou mais.

**[0266]** Em algumas modalidades, o período de tratamento é de pelo menos cerca de 1 dia, pelo menos cerca de 2 dias, pelo menos cerca de 3 dias, pelo menos cerca de 4 dias, pelo menos cerca de 5 dias, pelo menos cerca de 6 dias, pelo menos cerca de 1 semana, por pelo menos cerca de 2 semanas, pelo menos cerca de 3 semanas, pelo menos cerca de 4 semanas, pelo menos cerca de 1 mês, pelo menos cerca de 2 meses, pelo menos cerca de 3 meses, pelo menos cerca de 4 meses, pelo menos cerca de 5 meses, pelo menos cerca de 6 meses, ou pelo menos cerca de 1 ano. Em algumas modalidades, o período de tratamento é de cerca de 1 dia a 1 semana, de cerca de 1 semana a 4 semanas, de cerca de 1 mês a 3 meses, de cerca de 3 meses a 6 meses, de cerca de 6 meses a 1 ano ou por mais de um ano.

**[0267]** Em algumas modalidades, um total de $10^5$ e cerca de $10^{12}$ micro-

organismos é administrado ao paciente em uma determinada forma de dosagem. Em certas modalidades, uma quantidade eficaz pode ser fornecida de cerca de 1 a cerca de 500 ml ou de cerca de 1 a cerca de 500 gramas da composição bacteriana com cerca de $10^7$ a cerca de $10^{11}$bactérias por ml ou por grama, ou uma cápsula, comprimido, ou supositório com cerca de 1 mg a cerca de 1000 mg de pó liofilizado com cerca de $10^7$ a cerca de $10^{11}$ bactérias. Em algumas modalidades, aqueles que recebem tratamento agudo recebem doses mais altas do que aqueles que recebem administração crônica (como funcionários de hospitais ou aqueles internados em instalações de cuidados de longo prazo).

**[0268]** Em algumas modalidades, uma formulação descrita neste documento é administrada uma vez, em uma única ocasião ou em várias ocasiões, como uma vez por dia por vários dias ou mais de uma vez por dia no dia da administração (incluindo duas vezes por dia, três vezes por dia, ou até cinco vezes ao dia). Em algumas modalidades, uma formulação é administrada de forma intermitente de acordo com um cronograma definido, por exemplo, uma vez por dia, uma vez por semana ou uma vez por mês, ou quando o paciente apresenta recaída de melhora clínica (por exemplo, remissão clínica) de uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento, ou exibem um sinal ou sintomas de uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento. Em outras modalidades, uma formulação é administrada em uma base de longo prazo para indivíduos que estão em risco de doença ou distúrbio ativo, como aqueles divulgados neste documento ou são diagnosticados como estando em risco de desenvolver uma doença ou distúrbio (por exemplo, ter uma família história de UC ou história de uso de isotretinoína pelo indivíduo).

**[0269]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana da presente divulgação é administrada com outros agentes (por exemplo, agentes antimicrobianos ou prebióticos) como um modo de terapia de combinação. Em certas modalidades, a administração é sequencial, ao longo de um período de horas ou dias. Em outras modalidades, a administração é simultânea.

**[0270]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana é incluída na terapia de combinação com um ou mais agentes antimicrobianos, que incluem agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes antivirais e agentes

antiparasitários.

**[0271]** Os agentes antibacterianos adequados incluem antibióticos de cefalosporina (cefalexina, cefuroxima, cefadroxil, cefazolina, cefalotina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil e ceftobiprol); antibióticos de fluoroquinolona (cipro, Levaquina, floxina, tequina, avelox e norflox); antibióticos de tetraciclina (tetraciclina, minociclina, oxitetraciclina e doxiciclina); antibióticos de penicilina (amoxicilina, ampicilina, penicilina V, dicloxacilina, carbenicilina, vancomicina e meticilina); e antibióticos de carbapenemo (ertapenemo, doripenemo, imipenemo/cilastatina e meropenemo).

**[0272]** Os agentes anti-virais incluem Abacavir, aciclovir, adefovir, amprenavir, atazanavir, cidofovir, darunavir, Delavirdina, Didanosina, Docosanol, Efavirenz, elvitegravir, Emtricitabina, Enfuvirtida, etravirina, famciclovir, foscarnet, Fomivirsen, ganciclovir, Indinavir, Idoxuridina, Lamivudina, Lopinavir maraviroc, MK-2048, nelfinavir, nevirapina, Penciclovir, raltegravir, Rilpivirina, ritonavir, saquinavir, estavudina, tenofovir Trifluridina, valaciclovir, valganciclovir, Vidarabina, Ibacitabine, amantadina, oseltamivir, rimantadine, tipranavir, zalcitabina, zanamivir e zidovudina.

**[0273]** Exemplos de compostos antifúngicos incluem, mas não estão limitados a antifúngicos de polieno, tais como natamicina, rimocidina, filipina, nistatina, anfotericina B, candicina e hamicina; antifúngicos imidazol, tais como miconazol, cetoconazol, clotrimazol, econazol, omoconazol, bifonazol, butoconazol, fenticonazol, isoconazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol e tioconazol; antifúngicos triazólicos, tais como fluconazol, itraconazol, isavuconazol, ravuconazol, posaconazol, voriconazol, terconazol e albaconazol; antifúngicos tiazólicos, tais como abafungina; antifúngicos de alilamina, tais como terbinafina, naftifina e butenafina; e antifúngicos de equinocandina, tais como anidulafungina, caspofungina e micafungina. Outros compostos que têm propriedades antifúngicas incluem, mas não estão limitados a poligodial, ácido benzoico, ciclopirox, tolnaftato, ácido undecilênico, flucitosina ou 5-fluorocitosina, griseofulvina e haloprogina.

**[0274]** Em algumas modalidades, uma composição bacteriana é incluída na terapia de combinação com um ou mais corticosteroides, mesalazina, mesalamina, sulfassalazina, derivados de sulfassalazina, drogas imunossupressoras,

ciclosporina A, mercaptopurina, azatiopurina, prednisona, metotrexato, anti-histamínicos, glicocorticoides, epilinefrina, criolina, criolina sódio, anti-leucotrienos, drogas anticolinérgicas para rinite, descongestionantes anticolinérgicos, estabilizadores de mastócitos, anticorpos monoclonais anti-IgE, vacinas e suas combinações.

**[0275]** Um prebiótico é um ingrediente fermentado seletivamente que permite alterações específicas, tanto na composição e/ou atividade na microbiota gastrointestinal que confere benefícios ao bem-estar e à saúde do sujeito tratado. Os prebióticos podem incluir carboidratos complexos, aminoácidos, peptídeos ou outros componentes nutricionais essenciais para a sobrevivência da composição bacteriana. Os prebióticos incluem, mas não estão limitados a aminoácidos, biotina, fruto-oligossacarídeo, galacto-oligossacarídeo, inulina, lactulose, manano-oligossacarídeo, inulina enriquecida com oligofrutose, oligofrutose, oligodextrose, tagatose, trans-galacto-oligossacarídeo e xiloligossacarídeo.

**[0276]** Para avaliar um sujeito, os sinais ou sintomas de um evento adverso ou recorrência da doença são avaliados pós-tratamento variando de, por exemplo, cerca de 1 dia a cerca de 6 meses após a administração de uma formulação. Um método de avaliação envolve a obtenção de material fecal do sujeito e avaliação de micróbios presentes no trato gastrointestinal, por exemplo, usando rDNA 16S ou análise de sequenciamento shotgun metagenômico ou outras análises conhecidas na técnica. A população do trato gastrointestinal por espécies bacterianas apresenta a formulação, bem como o aumenta por micróbios comensais não presentes na formulação, pode ser usado para indicar uma melhoria na disbiose GI associada com, por exemplo, UC e, portanto, um risco reduzido de um evento adverso uma diminuição na gravidade de um evento adverso.

**[0277]** Além de tratar as diferentes doenças inflamatórias divulgadas neste documento (por exemplo, colite), o Requerente descobriu surpreendentemente que as composições projetadas divulgadas neste documento também podem ser usadas para tratar doenças ou distúrbios que geralmente não estão associados a respostas pró-inflamatórias. Um exemplo não limitativo de tal doença ou distúrbio é o câncer. Em algumas modalidades, as composições bacterianas divulgadas neste documento (por exemplo, composições projetadas) podem ser usadas para tratar

certos cânceres, por exemplo, quando administradas em combinação com outros agentes anticâncer. Sem estar limitado a qualquer teoria particular, as composições divulgadas neste documento são projetadas para ter características funcionais que visam múltiplas vias biológicas. Em algumas modalidades, as características funcionais são importantes para o tratamento de doenças inflamatórias. Em outras modalidades, as características funcionais são importantes para o tratamento de câncer. Em certas modalidades, as características funcionais são importantes para o tratamento de doenças inflamatórias e cânceres. Exemplos não limitativos de características funcionais que podem ser importantes para o tratamento de doenças inflamatórias e cânceres incluem, mas não estão limitados a, inibição da atividade de HDAC, produção de ácidos graxos de cadeia curta, produção de metabólitos de triptofano, produção de IL- 18, ativação de células T CD8 por metabólitos (por exemplo, ácidos graxos de cadeia curta) ou macromoléculas, ativação de células apresentadoras de antígenos, como células dentríticas, por antígenos bacterianos, macromoléculas e metabólitos, ou inflamação do cólon reduzida (por exemplo, através da elevação de Tregs) permitindo o recrutamento de células T CD8 para tumores localizados distalmente.

**[0278]** Em algumas modalidades, uma composição projetada divulgada neste documento é administrada em combinação com um agente terapêutico adicional usado para o tratamento de cânceres. Tais agentes terapêuticos adicionais podem incluir, por exemplo, drogas quimioterápicas, drogas de pequenas moléculas ou anticorpos que estimulam a resposta imunológica a um dado câncer. Em alguns casos, as composições terapêuticas podem incluir um inibidor do ponto de verificação imunológico, por exemplo, um anticorpo anti-PD-1, um anticorpo anti-PD-L1 ou um anticorpo anti-CTLA-4. Exemplos não limitativos de outros anticorpos que podem ser usados em combinação com as composições projetadas da presente divulgação incluem um anticorpo anti-OX40 (também conhecido como CD134, TNFRSF4, ACT35 e/ou TXGP1L), um anticorpo anti-CD137, um anti-LAG-3 anticorpo ou um anticorpo anti-GITR.

**[0279]** Em algumas modalidades, uma composição projetada divulgada neste documento, quando administrada em combinação com um agente anticâncer (por exemplo, inibidor de ponto de verificação imunológico, por exemplo, anticorpo

anti-PD-1 ou um anticorpo anti-PD-L1), pode reduzir o volume do tumor em um sujeito. Em certas modalidades, o volume do tumor é diminuído em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80%, ou pelo menos cerca de 90% no sujeito, em comparação com uma referência (por exemplo, volume do tumor no sujeito antes da administração ou um sujeito correspondente que não recebeu as composições divulgadas neste documento).

**[0280]** Em algumas modalidades, uma composição projetada divulgada neste documento, quando administrada em combinação com um agente anticâncer (por exemplo, inibidor de ponto de verificação imunológico, por exemplo, anticorpo anti-PD-1 ou um anticorpo anti-PD-L1), pode aumentar a porcentagem de células T CD8 e/ou células T CD4 (linfócitos infiltrantes de tumor) no tumor de um sujeito. Em algumas modalidades, a porcentagem de células T CD8 e/ou células T CD4 no tumor é aumentada em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito, em comparação com uma referência (por exemplo, o volume do tumor no sujeito antes da administração ou um sujeito correspondente que não receberam as composições divulgadas neste documento). Como resultado do aumento na porcentagem de células T CD8, em algumas modalidades, a razão de células T CD8 para células T reguladoras no tumor é aumentada, por exemplo, em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, em pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito, em comparação com uma referência.

**[0281]** Exemplos não limitantes de cânceres que podem ser tratados com a presente divulgação incluem carcinoma de células escamosas, câncer de pulmão de células pequenas, câncer de pulmão de células não pequenas, câncer de pulmão de células não pequenas escamosas (NSCLC), NSCLC não escamoso, glioma, câncer gastrointestinal , câncer renal (por exemplo, carcinoma de células claras), câncer de ovário, câncer de fígado, câncer colorretal, câncer endometrial,

câncer renal (por exemplo, carcinoma de células renais (RCC)), câncer de próstata (por exemplo, adenocarcinoma de próstata refratário a hormônios), câncer de tireoide, neuroblastoma, câncer pancreático, glioblastoma (glioblastoma multiforme), câncer cervical, câncer de estômago, câncer de bexiga, hepatoma, câncer de mama, carcinoma de cólon e câncer de cabeça e pescoço (ou carcinoma), câncer gástrico, tumor de células germinativas, sarcoma pediátrico, natural killer sinonasal, melanoma (por exemplo, melanoma maligno metastático, como melanoma maligno cutâneo ou intraocular), câncer ósseo, câncer de pele, câncer uterino, câncer da região anal, câncer testicular, carcinoma das trompas de falópio, carcinoma do endométrio, carcinoma do colo do útero, carcinoma do vagina, carcinoma da vulva, câncer do esôfago, câncer do intestino delgado, câncer do sistema endócrino, câncer da glândula paratireoide, câncer da glândula adrenal, sarcoma de tecidos moles, câncer da uretra, câncer do pênis , tumores sólidos da infância, câncer do ureter, carcinoma da pelve renal, neoplasia do sistema nervoso central (CNS), linfoma primário do CNS, angiogênese tumoral, tumor do eixo espinhal, câncer cerebral, glioma do tronco cerebral, adenoma pituitário, sarcoma de Kaposi, câncer epidermoide, câncer de células escamosas, linfoma de células T, cânceres induzidos pelo ambiente, incluindo aqueles induzidos por amianto, cânceres relacionados a vírus ou cânceres de origem viral(por exemplo, vírus do papiloma humano (tumores relacionados ou originados do HPV)) e malignidades hematológicas derivadas de qualquer uma das duas principais linhagens de células sanguíneas, *isto é,* a linha celular mieloide (que produz granulócitos, eritrócitos, trombócitos, macrófagos e mastócitos) ou linha celular linfoide (que produz células B, T, NK e plasmáticas), como todos os tipos de leucemias, linfomas e mielomas, por exemplo, leucemia aguda, crônica, linfocítica e/ou mielogênica, como leucemia aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica crônica (CLL) e leucemia mieloide crônica (CML), LMA indiferenciada (MO), leucemia mieloblástica (MI), leucemia mieloblástica (M2; com maturação celular), leucemia promielocítica (M3 ou M3 variante [M3V]), leucemia mielomonocítica (M4 ou M4 variante com eosinofilia [M4E]), leucemia monocítica (M5), eritroleucemia (M6), leucemia megacarioblástica (M7), sarcoma granulocítico isolado e cloroma; linfomas, como linfoma de Hodgkin (HL), linfoma não-Hodgkin (NHL), malignidade hematológica de

células B, por exemplo, linfomas de células B, linfomas de células T, linfoma linfoplasmocitoide, linfoma monocitoide de células B, linfoma de tecido linfoide associado à mucosa (MALT), anaplásico (por exemplo, Ki 1+) linfoma de células grandes, linfoma/leucemia de células T adultas, linfoma de células do manto, linfoma angioimunoblástico de células T, linfoma angiocêntrico, linfoma de células T intestinal, linfoma de células B mediastinal primário, linfoma linfoblástico T precursor, linfoblástico T; e linfoma/leucemia (T-Lbly/T-ALL), linfoma de células T periférico, linfoma linfoblástico, distúrbio linfoproliferativo pós-transplante, linfoma histiocítico verdadeiro, linfoma primário do sistema nervoso central, linfoma de efusão primária, linfoma de células B, linfoma linfoblástico ( LBL), tumores hematopoiéticos de linhagem linfoide, leucemia linfoblástica aguda, linfoma difuso de grandes células B, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma histiocítico difuso (DHL), linfoma imunoblástico de grandes células, linfoma linfoblástico precursor B, linfoma cutâneo de células T (CTLC) (também denominado micose fungoide ou síndrome de Sezary) e linfoma linfoplasmacitoide (LPL) com macroglobulinemia de Waldenstrom; mielomas, como mieloma IgG, mieloma de cadeia leve, mieloma não secretor, mieloma latente (também chamado de mieloma indolente), plasmocitoma solitário e mielomas múltiplos, leucemia linfocítica crônica (CLL), linfoma de células pilosas; tumores hematopoiéticos de linhagem mieloide, tumores de origem mesenquimal, incluindo fibrossarcoma e rabdomiosscarcoma; seminoma, teratocarcinoma, tumores do sistema nervoso central e periférico, incluindo astrocitoma, schwannomas; tumores de origem mesenquimal, incluindo fibrossarcoma, rabdomiossarcoma e osteossarcoma; e outros tumores, incluindo melanoma, xeroderma pigmentoso, ceratoacantoma, seminoma, câncer folicular da tireoide e teratocarcinoma, tumores hematopoiéticos de linhagem linfoide, por exemplo, células T e tumores de células B, incluindo, mas não se limitando a distúrbios de células T, como T- leucemia prolinfocítica (T-PLL), incluindo do tipo de célula pequena e célula cerebriforme; leucemia de linfócitos granulares grandes (LGL) do tipo de células T; linfoma hepatoesplênico a/d T-NHL; linfoma de células T periférico/pós-tímico (subtipos pleomórfico e imunoblástico); linfoma angiocêntrico (nasal) de células T; câncer de cabeça ou pescoço, câncer renal, câncer retal, câncer da glândula tireoide; linfoma mieloide agudo, bem como

quaisquer combinações dos referidos cânceres. Os métodos descritos neste documento também podem ser usados para o tratamento de cânceres metastáticos, não ressecáveis, cânceres refratários (por exemplo, cânceres refratários à imunoterapia anterior , por exemplo, com um anticorpo bloqueador CTLA-4 ou PD-1) e/ou cânceres recorrentes.

### *IV. Métodos de identificação de doadores FMT adequados*

**[0282]** O requerente descobriu que certos perfis de microbioma, por exemplo, famílias, gêneros e/ou espécies, estão associados a uma eficácia clínica melhorada em uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento (por exemplo, pacientes com colite ulcerosa). Por conseguinte, em certos aspectos, a presente divulgação fornece um método de seleção de doadores cujas fezes são úteis para a preparação de composições e formulações bacterianas divulgadas neste documento. Em algumas modalidades, o método compreende: a) obtenção de uma amostra de microbioma de um sujeito (*ou seja*, doador potencial) e b) determinação da prevalência de uma família, gênero e/ou espécie de bactéria na amostra de microbioma.

**[0283]** Em algumas modalidades, o sujeito é um doador adequado se a amostra de microbioma compreender uma ou mais bactérias da família*Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Sutterellaceae*, *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Bacteroidaceae*, *Akkermansiaceae*, *Peptostreptococcaceae, Eubacteriaceae ou Desulfovibrionaceae*. Em algumas modalidades, o sujeito é um doador adequado se a amostra de microbioma compreende uma ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Gemmiger formicilis*, *Roseburia hominis*, *Clostridium bolteae*, *Parasutterella excrementihominis*, *Holdemania filiformis*, *Holdemania massiliensis*, *Bacteroides ovatus*, *Akkemansia muciniphila*, *Clostridium leptum*, *Bilophila wadsworthia*, *Dielma fastidiosa*, *Clostridium symbiosum*, *Eubacterium siraeum*, *Agathobaculum desmolans*, *Agathobaculum butyriciproducens, ou Bacteroides vulgatus*. Em algumas modalidades, o sujeito é um doador adequado se a amostra de microbioma compreender uma ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Anaerotruncus colihominis, Blautia producta, Clostridium bolteae, Clostridium disporicum, Clostridium ghonii, Clostridium glycolicum, Clostridium innocostridium, Clostridium viridium lactatium, Eubacterium*

*sp. WAL 14571, Lachnospiraceae bacterium 3 1 57FA, Lachnospiraceae bacterium oral táxon F15, Lactonifactor longoviformis,* ou *Ruminococcus lactaris*. Em certas modalidades, o sujeito é um doador adequado se a amostra de microbioma compreender uma ou mais bactérias divulgadas na Tabela 4, Tabela 5, FIG. 13, FIG. 17, FIG. 30, FIG. 31 e/ou FIG. 32. Em algumas modalidades, o sujeito é um doador adequado se a amostra de microbioma compreender uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos cerca de 99%, pelo menos cerca de 99,5% ou cerca de 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida na SEQ ID NOs: 1-14, 16-30, 32-36, 39, 41, 44, 45, 47-51, 59-62, 64-68, 72-76, 102-398 ou qualquer uma das espécies anteriores.

**[0284]** Em algumas modalidades, é selecionado um doador que produz concentrações relativamente mais altas de esporos no material fecal do que outros doadores. Em outras modalidades, um doador é selecionado para fornecer material fecal do qual os esporos com eficácia aumentada são purificados; esta eficácia aumentada é medida usando estudos *in vitro* ou em animais como descrito neste documento ou por qualquer outro método conhecido na técnica. Em algumas modalidades, um doador pode ser submetido a um ou mais tratamentos pré-doação para reduzir o material indesejado no material fecal e/ou aumentar as populações de esporos desejadas.

**[0285]** É vantajoso rastrear a saúde de um sujeito doador antes e, opcionalmente, uma ou mais vezes depois da coleta do material fecal. Essa triagem identifica doadores portadores de materiais patogênicos, como vírus (HIV, hepatite, poliomielite) e bactérias patogênicas. Após a coleta, os doadores são examinados cerca de uma semana, duas semanas, três semanas, um mês, dois meses, três meses, seis meses, um ano ou mais de um ano e a frequência dessa triagem pode ser diária, semanal, bissemanal, mensal, bimestral, semestral ou anual. Em algumas modalidades, os doadores que são examinados e não apresentam resultado positivo, antes ou depois da doação ou ambos, são considerados doadores "validados" ou adequados.

***V. Métodos de identificação de um candidato para tratamento com uma composição projetada***

**[0286]** O requerente descobriu que certos perfis de microbioma, por exemplo, famílias, gêneros e/ou espécies, estão associados a uma exacerbação ou não melhora (por exemplo*, nenhuma remissão clínica)* de uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento (por exemplo, colite ulcerativa). Por conseguinte, em certos aspectos, a presente divulgação fornece um método para identificar um sujeito com uma probabilidade reduzida de responder a uma composição ou formulação bacteriana divulgada neste documento. Alternativamente, é fornecido neste documento um método para identificar um sujeito que provavelmente responderá (por exemplo, remissão clínica) a uma composição ou formulação bacteriana divulgada neste documento. Em algumas modalidades, o método compreende: a) obter uma amostra de microbioma de um sujeito (por exemplo, paciente com colite ulcerativa que recebeu uma composição bacteriana divulgada neste documento), e b) determinar a prevalência de uma família, gênero e/ou espécie de bactéria na amostra do microbioma.

**[0287]** Em algumas modalidades, o sujeito provavelmente não responderá a um tratamento divulgado neste documento se a amostra de microbioma compreender uma ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Eubacterium contortum*, *Clostridium hathewayi*, *Erysipelatoclostridum ramosum*, *Bifidobacterium dentium*, *Dialister invisus*, *Prevotella copri*, *Veillonella atypica*, *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*ou *Veillonella ratti*. Em algumas modalidades, o sujeito provavelmente não responderá se a amostra de microbioma compreender uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos cerca de 99%, pelo menos cerca de 99,5%, ou cerca de 100% idêntica a uma sequência de rDNA 16S estabelecida na SEQ ID NO: 15, 31, 37, 38, 40, 42, 43, 46, 52-58, 63, 69-71 e 83-101 ou qualquer uma das espécies anteriores.

**[0288]** Em algumas modalidades, é provável que o sujeito responda a um tratamento divulgado neste documento se a amostra do microbioma não

compreender uma ou mais das seguintes espécies bacterianas: *Eubacterium contortum*, *Clostridium hathewayi*, *Erysipelatoclostridum ramosum*, *Bifidobacterium dentium*, *Dialister invisus*, *Prevotella copri*, *Veillonella atypica*, *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula* ou *Veillonella ratti*. Em algumas modalidades, o sujeito provavelmente responderá ao tratamento se a amostra de microbioma não compreender uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos cerca de 99,5% ou cerca de 100% idêntica a uma sequência 16S rDNA estabelecida na SEQ ID NO: 15, 31, 37, 38, 40, 42, 43, 46, 52-58, 63, 69-71 e 83-101 ou qualquer uma das espécies anteriores.

**[0289]** Em algumas modalidades, o sujeito, por exemplo, um indivíduo diagnosticado com uma doença ou distúrbio, como aqueles divulgados neste documento, é um candidato para o tratamento com uma composição divulgada neste documento se uma amostra de microbioma GI do sujeito compreender um ou mais dos seguintes Espécies: *Gemmiger formicilis*, *Roseburia hominis*, *Clostridium bolteae*, *Parasutterella excrementihominis*, *Holdemania filiformis*, *Holdemania massiliensis*, *Bacteroides ovatus*, *Akkemansia muciniphila*, *Clostridium leptum*, *Bilophila wadsworthia*, *Dielma fastidiosa*, *Clostridium symbiosum*, *Eubacterium siraeum*, *Agathobaculum desmolans*, *Agathobaculum butyriciproducens, ou Bacteroides vulgatus*. Em algumas modalidades, o sujeito é um candidato ao tratamento com uma composição divulgada neste documento se uma amostra de microbioma GI compreender *Anaerotruncus colihominis, Blautia producta, Clostridium bolteae, Clostridium disporicum, Clostridium ghonii, Clostridium glycolicum, Clostridium innocuum, Clostridium lactatifermentans, Clostridium viride, Eubacterium sp. WAL 14571, Lachnospiraceae bacterium 3 1 57FA, Lachnospiraceae bacterium oral táxon F15, Lactonifactor longoviformis* ou *Ruminococcus lactaris.* Em algumas modalidades, o sujeito é um doador adequado se a amostra de microbioma do sujeito compreende uma ou mais bactérias divulgadas na Tabela 4, Tabela 5, FIG. 13, FIG. 17, FIG. 30, FIG. 31 e/ou FIG. 32. Em algumas modalidades, o sujeito é um candidato ao tratamento com uma

composição divulgada neste documento se a amostra de microbioma compreender uma ou mais bactérias compreendendo uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos cerca de 85%, pelo menos cerca de 90%, pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 97,5%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 98,5%, pelo menos cerca de 99%, pelo menos cerca de 99,5% ou cerca de 100% idêntico a um 16S sequência de rDNA estabelecida na SEQ ID NOs: 1-14, 16-30, 32-36, 39, 41, 44, 45, 47-51, 59-62, 64-68, 72-76, 102-398 ou qualquer uma das espécies anteriores. Um candidato ao tratamento é um sujeito que provavelmente responderá ao tratamento com uma composição fornecida neste documento por meio da melhora em um ou mais sinais ou sintomas de uma doença ou distúrbio, como aqueles associados a uma disbiose.

*Informações adicionais*

**[0290]** Certos termos usados no presente pedido são definidos como segue. Definições adicionais são estabelecidas em toda a descrição detalhada.

**[0291]** Deve ser observado que a entidade do termo "um/uma" se refere a uma ou mais dessas entidades; por exemplo, "uma sequência de nucleotídeo", entende-se por representar um ou mais sequências de nucleotídeo. Como tal, os termos "um/uma", "um ou mais" e "pelo menos um" podem ser usados de forma intercambiável neste documento.

**[0292]** Além disso, "e/ou", onde usado neste documento, deve ser tomado como a divulgação específica de cada uma das duas características ou componentes especificados com ou sem o outro. Assim, o termo "e/ou" como usado em uma frase tal como "A e/ou B", neste documento, destina-se a incluir "A e B", "A ou B", "A" (por si só) e "B" (por si só). Da mesma forma, o termo "e/ou" como usado em uma frase tal como "A, B e/ou C" destina-se a abranger cada um dos seguintes aspectos: A, B, e C; A, B, ou C; A ou C; A ou B; B ou C; A e C; A e B; B e C; A (por si só); B (por si só); e C (por si só).

**[0293]** É compreendido que onde quer que os aspectos sejam descritos neste documento com a linguagem "compreendendo", aspectos análogos de outra forma descritos em termos de "consistindo em" e/ou "consistindo essencialmente em" também são providos.

**[0294]** A menos que definido de outra forma, todos os termos técnicos e

científicos usados neste documento têm o mesmo significado como comumente compreendido por alguém de conhecimento comum na técnica a que se relaciona esta divulgação.

**[0295]** Unidades, prefixos e símbolos são denotados em sua forma aceita pelo Système International de Unites (Sistema Internacional de Unidades - SI). As faixas numéricas incluem os números que definem a faixa. Salvo indicação em contrário, as sequências de nucleotídeos são escritas da esquerda para a direita na orientação 5' para 3'. As sequências de aminoácidos são escritas da esquerda para a direita na orientação amino para carboxi. Os títulos providos neste documento não são limitações dos vários aspectos da divulgação, os quais podem ser obtidos por referência ao relatório descritivo como um todo. Consequentemente, os termos definidos imediatamente abaixo são mais completamente definidos por referência ao relatório descritivo em sua totalidade.

**[0296]** O termo "cerca de" é utilizado neste documento para significar aproximadamente, mais ou menos, em torno de, ou na região de. Quando o termo "cerca" é usado em conjunto com um intervalo numérico, ele modifica esse intervalo, alargando os limites acima e abaixo dos valores numéricos estabelecidos. Em geral, o termo "cerca de" pode modificar um valor numérico acima e abaixo do valor declarado por uma variação de, por exemplo, 10 por cento, 5 por cento, 3 por cento, 2 por cento ou 1 por cento; para cima ou para baixo (mais alto ou mais baixo).

**[0297]** O termo "clado" refere-se às OTUs ou membros de uma árvore filogenética que estão a jusante de um nó estatisticamente válido em uma árvore filogenética. O clado compreende um conjunto de folhas terminais na árvore filogenética que é uma unidade evolutiva monofilética distinta e que compartilha alguma extensão de similaridade de sequência.

**[0298]** Como usado neste documento, "microbiota" refere-se a uma comunidade de micro-organismos que ocorrem (de forma sustentável ou transitória) em um animal ou sujeito, tipicamente um mamífero, tal como um humano, incluindo eucariotos, arqueias, bactérias e vírus (incluindo vírus bacterianos, *ou seja,* fago).

**[0299]** O termo "microbioma" refere-se aos micróbios que vivem dentro e sobre o corpo humano, tanto de forma sustentável como transitória, incluindo eucariotos, arqueias, bactérias e vírus (incluindo vírus bacterianos, *isto é*, fago). Tal

como utilizado neste documento, "conteúdo genético" inclui DNA genômico, RNA tal como RNA ribossomal, epigenoma, plasmídeos e todos os outros tipos de informação genética.

**[0300]** O termo "nicho ecológico" ou "nicho" refere-se ao espaço ecológico no qual um organismo ou grupo de organismos ocupa. Nicho descreve como um organismo ou população responde à distribuição de recursos, parâmetros físicos (por exemplo, espaço do tecido do hospedeiro) e competidores (por exemplo, crescendo quando os recursos são abundantes e quando predadores, parasitas e patógenos são escassos) e como isso por sua vez, altera esses mesmos fatores (por exemplo, limitando o acesso a recursos por outros organismos, agindo como uma fonte de alimento para predadores e um consumidor de presas).

**[0301]** O termo "disbiose" se refere a um estado da microbiota do trato gastrointestinal ou de outra área do corpo em um sujeito, incluindo superfícies mucosas ou superfícies da pele, nas quais a diversidade e/ou a função normal da rede ecológica microbiana são interrompidas. Este estado insalubre pode ser devido à uma diminuição na diversidade, ao crescimento excessivo de um ou mais patógenos ou patobiontes, a organismos simbióticos capazes de causar doenças apenas quando certas condições genéticas e/ou ambientais estão presentes em um sujeito ou à mudança para uma rede microbiana ecológica que deixa de ter uma função essencial ao sujeito hospedeiro e, portanto, deixa de promover saúde.

**[0302]** Como utilizado neste documento, o termo "unidades taxonômicas operacionais" ou "OTU - operational taxonomic units" (ou plural, "OTUs") refere-se a uma folha terminal em uma árvore filogenética e é definida por uma sequência de ácido nucleico, por exemplo, todo o genoma ou uma sequência genética específica e todas as sequências que compartilham identidade de sequência com essa sequência de ácido nucleico no nível da espécie. Em algumas modalidades, a sequência genética específica pode ser a sequência 16S rDNA ou uma porção da sequência 16S rDNA. Em outras modalidades, todo o genoma de duas entidades é sequenciado e comparado. Em outra modalidade, regiões selecionadas, tais como marcadores de sequência multilocus (MLST), genes específicos ou conjuntos de genes podem ser comparados geneticamente. Em modalidades de 16S, OTUs que compartilham ≧97% de identidade de nucleotídeo média em todo o 16S ou uma

região variável do rDNA 16S, por exemplo, uma região V4, são consideradas a mesma OTU (*ver,* por exemplo*,* Claesson M J, Wang Q, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, Cole J R, Ros R P, e O'Toole P W. 2010. Comparação de duas tecnologias de sequenciamento de próxima geração para resolver a composição de microbioma altamente complexa usando regiões do gene 16S rRNA variáveis em tandem. *Nucleic Acids Res* 38: e200. Konstantinidis KT, Ramette A e Tiedje J M. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940). Em modalidades que envolvem o genoma completo, MLSTs, genes específicos ou conjuntos de genes de OTUs que compartilham ≧95% da identidade de nucleotídeos média são considerados a mesma OTU (*ver,* por exemplo*,* Achtman M, e Wagner M. 2008. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat. Rev. Microbiol*. 6: 431-440. Konstantinidis KT, Ramette A e Tiedje J M. 2006. The bacterial species definition in the genomic era. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361: 1929-1940.). OTUs são frequentemente definidas pela comparação de sequências entre organismos. Geralmente, as sequências com menos de 95% de identidade de sequência não são consideradas parte da mesma OTU. Em alguns casos, uma OTU é caracterizada por uma combinação de marcadores de nucleotídeos, genes e/ou variantes de nucleotídeo único (SNVs). Em alguns casos, os genes referenciados são genes altamente conservados (por exemplo, genes de "manutenção da casa"). Os recursos que definem uma OTU podem ser uma combinação dos anteriores. Essa caracterização emprega, por exemplo, dados WGS ou uma sequência inteira do genoma.

**[0303]** Tal como utilizado neste documento, o termo "árvore filogenética" refere-se a uma representação gráfica das relações evolutivas de uma sequência genética para outra que é gerada usando um conjunto definido de algoritmos de reconstrução filogenética (por exemplo, parcimônia, probabilidade máxima ou Bayesiana). Os nós na árvore representam sequências ancestrais distintas e a confiança de qualquer nó é fornecida por um bootstrap ou probabilidade bayesiana posterior, que mede a incerteza do ramo.

**[0304]** A especificação é melhor compreendida à luz dos ensinamentos das referências citadas na especificação. As modalidades na especificação fornecem uma ilustração das modalidades e não devem ser interpretadas como limitadoras

do escopo. O versado na técnica reconhecerá prontamente que muitas outras modalidades são englobadas. Todas as publicações e patentes citadas nesta divulgação são incorporadas por referência na sua totalidade. Na medida em que o material incorporado por referência contradiz ou seja inconsistente com este relatório descritivo, o relatório descritivo substituirá qualquer um desses materiais. A citação de quaisquer referências neste documento não é uma admissão de que tais referências são da técnica anterior.

**[0305]** Tal como utilizado neste documento, o termo "sujeito" refere-se a qualquer sujeito animal, incluindo humanos, animais de laboratório (por exemplo, primatas, ratos, camundongos), gado (por exemplo, vacas, ovelhas, cabras, porcos, perus e galinhas) e animais domésticos (por exemplo, cães, gatos e roedores). O sujeito pode estar sofrendo de disbiose, incluindo, mas não se limitando a, uma infecção devido a um patógeno gastrointestinal ou pode estar em risco de desenvolver ou transmitir a outros uma infecção devido a um patógeno gastrointestinal. Em algumas modalidades, o sujeito sofre de uma colite ulcerosa.

**[0306]** A colite ulcerativa (CU) é uma doença do intestino grosso (cólon) caracterizada por diarreia crônica com cólicas abdominais, sangramento retal e secreções soltas de sangue, pus e muco. As manifestações da colite ulcerativa variam amplamente. Um padrão de exacerbações e melhorias tipifica o curso clínico da maioria dos pacientes com CU (70%), embora sintomas contínuos sem melhorias estejam presentes em alguns pacientes com CU. As complicações locais e sistêmicas da CU incluem artrite, inflamação dos olhos, como uveíte, úlceras de pele e doença hepática. Além disso, a colite ulcerosa e, especialmente, uma doença prolongada, estão associadas a um risco aumentado de carcinoma do cólon. As composições bacterianas fornecidas neste documento podem ser utilizadas para melhorar uma ou mais características da colite ulcerosa ou outra IBD.

**[0307]** Várias características patológicas caracterizam a CU em distinção a outras doenças inflamatórias intestinais. A colite ulcerativa é uma doença difusa que geralmente se estende da parte mais distal do reto por uma distância variável proximalmente. O termo colite do lado esquerdo descreve uma inflamação que envolve a porção distal do cólon, estendendo-se até a flexura esplênica. A preservação do reto ou envolvimento do lado direito (porção proximal) do cólon

sozinho é incomum na colite ulcerativa. O processo inflamatório da colite ulcerativa é limitado ao cólon e não envolve, por exemplo, o intestino delgado, estômago ou esôfago. Além disso, a colite ulcerosa é caracterizada por uma inflamação superficial da mucosa que geralmente preserva as camadas mais profundas da parede intestinal. Abcessos de cripta, nos quais criptas intestinais degeneradas estão cheias de neutrófilos, também são típicos de colite ulcerativa (Rubin e Farber, *supra*, 1994).

**[0308]** A colite ulcerativa pode ainda ser categorizada como "leve", "moderada", "grave" ou "fulminante" (muito grave). Em algumas modalidades, a colite ulcerosa a ser tratada é leve a moderada, por exemplo, um score de Mayo de ≥4 e ≤10. Em algumas modalidades, um paciente a ser tratado com uma composição de microbioma foi diagnosticado com CU moderada a severamente ativa. Em algumas modalidades, o paciente diagnosticado com CU teve uma resposta inadequada, perda de resposta ou é intolerante à terapia convencional ou biológica. Em algumas modalidades, um sujeito tratado com uma composição de microbioma exibe uma ou mais das seguintes melhorias: resposta clínica com base em um escore de Mayo, por exemplo, escore de Mayo modificado (MMS), remissão endoscópica com base no subescore endoscópico MMS (ES), remissão sintomática com base na frequência de fezes MMS (SF) e subescores de sangramento retal (RB), resposta sintomática com base nos subescores MMS SF e RB, cicatrização da mucosa com base em um índice de atividade de doença histológica (escore de Geboes ou índice de histologia de Robards), resposta endoscópica com base no MMS ES, sintomas de CU com base nos escores NRS, Qualidade de vida relacionada à saúde com base no escore IBDQ e mudança desde o início até a semana 7, 8 ou 12 nos níveis de calprotectina fecal.

**[0309]** Além da colite ulcerosa, as composições bacterianas divulgadas neste documento também podem ser úteis para o tratamento de outras doenças ou distúrbios, incluindo aqueles associados a uma disbiose do trato gastrointestinal. Sem estar limitado por qualquer teoria, as composições bacterianas divulgadas neste documento podem tratar tais doenças ou distúrbios por enxerto e repovoamento do trato gastrointestinal de um sujeito e, assim, mudar o microbioma do sujeito de um de disbiose para um que mais se assemelha a um estado

saudável. Em algumas modalidades, as composições bacterianas divulgadas neste documento podem prevenir o crescimento de um patógeno associado a uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, competindo por nutrientes de crescimento). Em algumas modalidades, uma composição bacteriana divulgada neste documento pode ser projetada para produzir vários fatores que podem, por exemplo, reduzir e/ou inibir uma resposta imune pró-inflamatória (por exemplo, pela produção de fatores, tais como metabólitos de triptofano, ácidos graxos, ácido biliar secundário, ou inibindo a ativação de HDAC).

**[0310]** Exemplos não limitativos de tais doenças ou distúrbios incluem distúrbios gastrointestinais imunomediados, incluindo, mas não se limitando a, doença de Crohn, colite linfocítica; colite microscópica; colite colagenosa; enteropatia autoimune, incluindo enterite autoimune e enterocolite autoimune; doença gastrointestinal alérgica; e doença gastrointestinal eosinofílica, incluindo gastroenterite eosinofílica e enteropatia eosinofílica. Exemplos não limitativos de outros distúrbios imunomediados que podem ser tratados com uma composição descrita neste documento incluem: artrite (aguda e crônica, artrite reumatoide incluindo artrite reumatoide juvenil e estágios como sinovite reumatoide, gota ou artrite gotosa, artrite imunológica aguda, artrite inflamatória crônica, artrite degenerativa, artrite induzida por colágeno tipo II, artrite infecciosa, artrite de Lyme, proliferativa artrite, artrite psoriática, doença de Still, artrite vertebral, osteoartrite, artrite crônica progressiva, artrite deformante, poliartrite crônica primária, artrite reativa, artrite menopáusica, artrite com depleção de estrogênio e espondilite anquilosante/espondilite reumatoide), doença linfoproliferativa autoimune, doenças inflamatórias da pele hiperproliferativas, psoríase, como psoríase em placas, psoríase gutatte, psoríase pustulosa e psoríase das unhas, atopia incluindo doenças atópicas, como febre do feno e síndrome de Job, dermatite incluindo dermatite de contato, dermatite de contato crônica, dermatite de contato crônica, dermatite de contato , dermatite alérgica, dermatite alérgica de contato, urticária, dermatite herpetiforme, dermatite numular, dermatite seborreica, dermatite não específica, dermatite de contato irritante primária, e dermatite atópica, síndrome de hiper IgM ligada ao X, doenças inflamatórias intraoculares alérgicas, urticária, como urticária alérgica crônica e urticária idiopática crônica, incluindo urticária autoimune

crônica, miosite, polimiosite/dermatomiosite, dermatomiosite juvenil, necrólise epidérmica tóxica, esclerodermia (incluindo esclerodermia sistêmica ), esclerose, como esclerose sistêmica, esclerose múltipla (MS), como MS espino-óptica, MS progressiva primária (PPMS) e MS recorrente-remitente (RRMS), esclerose sistêmica progressiva, aterosclerose, arteriosclerose, esclerose disseminada, esclerose atáxica, neuromielite óptica (NMO), doença inflamatória do intestino (IBD) (por exemplo, doença de Crohn, doenças gastrointestinais autoimunes mediadas, inflamação gastrointestinal, colite, como colite ulcerativa, colite ulcerosa, colite microscópica, colite colagenosa , colite poliposa, enterocolite necrosante e colite transmural e doença inflamatória intestinal autoimune), inflamação intestinal, pioderma gangrenoso, eritema nodoso, colangite esclerosante primária, síndrome do desconforto respiratório, incluindo adulto ou síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS), meningite, inflamação de toda ou parte da úvea, irite, coroidite, um distúrbio hematológico autoimune, doença do enxerto contra hospedeiro, angioedema, como angioedema hereditário, lesão do nervo craniano como na meningite, herpes gestacional, penfigoide gestacional, prurido escroto, insuficiência ovariana prematura autoimune, perda auditiva súbita devido a uma condição autoimune, doenças mediadas por IgE, como anafilaxia e rinite alérgica e atópica, encefalite, como a encefalite de Rasmussen e encefalite límbica e/ou do tronco cerebral, uveíte, como uveíte anterior, uveíte anterior aguda, uveíte granulomatosa, uveíte não granulomatosa, uveíte posterior facoantigênica, uveíte facoantigênica ou uveíte posterior uveíte autoimune, glomerulonefrite (GN) com e sem síndrome nefrótica, como glomerulonefrite aguda ou crônica, como GN primária, GN imunomediada, GN membranosa (nefropatia membranosa), GN membranosa idiopática ou nefropatia membranosa idiopática, GN membranosa ou proliferativa membranosa (GNMP), incluindo Tipo I e Tipo II, e GN rapidamente progressiva (RPGN), nefrite proliferativa, insuficiência endócrina poliglandular autoimune, balanite incluindo balanite circunscrita plasmacelular, balanopostite, eritema anular centrifugum, eritema discrômico perstans, eythema nitormus multiforme, granuloma anular, líquen escleroso e atrófico, líquen simplex crônico, líquen espinhoso, líquen plano, ictiose lamelar, hiperceratose epidermolítica, ceratose pré-maligna, pioderma gangrenoso, condições alérgicas e respostas,

alergias alimentares, alergias a medicamentos, alergias a insetos, alergias a insetos, reações alérgicas raras , eczema incluindo eczema alérgico ou atópico, eczema asteatótico, eczema disidrótico e eczema vesicular palmoplanar, asma, como asma brônquica, asma brônquica e asma autoimune, condições envolvendo infiltração de células T e respostas inflamatórias crônicas, reações imunes contra antígenos estranhos como grupos sanguíneos fetais A-B-0 durante a gravidez, doença pulmonar inflamatória crônica, miocardite autoimune, deficiência de adesão de leucócitos, lúpus, incluindo nefrite lúpica, cerebrite lúpica, lúpus pediátrico, lúpus não renal, lúpus extra-renal, lúpus discoide e lúpus discoide eritematoso, alopecia lúpus, LES, como LES cutâneo ou LES cutâneo subagudo, síndrome do lúpus neonatal (NLE) e lúpus eritematoso disseminado, diabetes mellitus de início juvenil (Tipo I), incluindo IDDM pediátrico, diabetes mellitus de início adulto (diabetes Tipo II), autoimune diabetes, diabetes insípido idiopático, retinopatia diabética, nefropatia diabética, colite diabética, distúrbio diabético das grandes artérias, respostas imunes associadas com hipersensibilidade aguda e retardada mediada por citocinas e linfócitos T, tuberculose, sarcoidose, granulomatose incluindo granulomatose linfomatoide, agranulocitose, vasculites (incluindo vasculite de grandes vasos, como polimialgia reumática e arterite de células gigantes (Takayasu), vasculite de vasos médios, como doença de Kawasaki, e poliarterite nodosa/periarterite nodosa, imunovasculite, vasculite do sistema nervoso central, vasculite cutânea vasculite de hipersensibilidade, vasculite necrotizante, como vasculite necrosante fibrinoide e vasculite necrosante sistêmica, vasculite negativa para ANCA e vasculite associada a ANCA, como síndrome de Churg-Strauss (CSS), granulomatose de Wegener e poliangiite microscópica, anemia temporalaplástica arterite, anemia aplástica autoimune, anemia Coombs positiva, anemia Diamond Blackfan, anemia hemolítica ou anemia hemolítica imunológica incluindo anemia hemolítica autoimune (AIHA), anemia perniciosa (anemia perniciosa), doença de Addison, anemia eritrocitária pura ou aplasia (PRCA), Deficiência de fator VIII, hemofilia A, neutropenia (s) autoimune (s), citopenias, como pancitopenia, leucopenia, doenças envolvendo diapedese de leucócitos, distúrbios inflamatórios do SNC, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, síndrome de lesão de múltiplos órgãos, como aquelas secundárias a septicemia,

trauma ou hemorragia, doenças mediadas por complexo antígeno-anticorpo, doença da membrana basal antiglomerular, síndrome do anticorpo antifosfolipídeo,motoneurite, neurite alérgica, doença/síndrome de Behçet, síndrome de Castleman, síndrome de Goodpasture, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjögren, síndrome de Stevens-Johnson, penfigoide ou pênfigo como penfigoide bolhoso, penfigoide cicatricial (membrana mucosa), penfigoide cutâneo, penfigoide vulgar, pênfigo foliáceo, penfigoide da membrana mucosa do pênfigo e pênfigo eritematoso, epidermólise bolhosa adquirida, inflamação ocular, incluindo inflamação ocular alérgica, como conjuntivite alérgica, doença bolhosa IgA linear, doença conjuntival autoimune induzida por autoimunidade, síndrome da conjuntivite autoimune ou poliendocratismo autoimune lesão devido a uma condição autoimune, pré-eclâmpsia, um distúrbio do complexo imunológico, como nefrite do complexo imunológico, nefrite mediada por anticorpos, distúrbios neuroinflamatórios, polineuropatias, neuropatia crônica, como polineuropatias IgM ou neuropatia mediada por IgM, trombocitopenia (como desenvolvida por pacientes com infarto do miocárdio, por exemplo), incluindo púrpura trombocitopênica trombótica (TTP), púrpura pós-transfusão (PTP), trombocitopenia induzida por heparina e ou trombocitopenia imunomediada incluindo, por exemplo, púrpura trombocitopênica idiopática (ITP) incluindo ITP crônica ou aguda, esclerite, tal como ceratoesclerite idiopática, episclerite, doença autoimune dos testículos e ovários, incluindo orquite autoimune e ooforite, hipotireoidismo primário, hipoparatireoidismo, doenças endócrinas autoimunes, incluindo tireoidite, como tireoidite autoimune, doença de Hashimoto, tireoidite crônica (tireoidite de Hashimoto), ou doença subacute tireoidite, hipotireoidismo idiopático doença, doença do olho da sepultura (oftalmopatia ou oftalmopatia associada à tireoide), síndromes poliglandulares, como síndromes poliglandulares autoimunes, por exemplo, tipo I (ou síndromes de endocrinopatia poliglandular), síndromes paraneoplásicas, incluindo síndromes paraneoplásicas neurológicas, como síndrome miastênica de Lambert-Eaton ou síndrome de Eaton-person-Lambert, síndrome do homem rígido ou encefalomite como encefalomielite alérgica ou encefalomielite alérgica e encefalomielite alérgica experimental (EAE), miastenia gravis, como miastenia gravis associada ao timoma, degeneração cerebelar,

neuromiotonia, opsoclonia ou síndrome de opsoclonia (OMS), e neuropatia sensorial, neuropatia motora multifocal, síndrome de Sheehan, hepatite autoimune, hepatite crônica, hepatite lupoide, hepatite de células gigantes, hepatite crônica ativa ou hepatite crônica ativa autoimune, pneumonite, como pneumonite intersticial linfoide (LIP), bronquiolite obliterante (não transplante) vs. NSIP, síndrome de Guillain-Barre, doença de Berger (nefropatia por IgA), nefropatia idiopática por IgA, dermatose IgA linear, dermatose neutrofílica febril aguda, dermatose pustulosa subcórnea, dermatose acantolítica transitória, cirrose, síndrome autoimunológica ou cirrose biliar primária, cirrose biliar ou pneumopatia, cirrose e pneumose biliar primária, síndrome celíaca Doença celíaca, espru celíaco (enteropatia do glúten), espru refratário, espru idiopático, crioglobulinemia, como crioglobulinemia mista, esclerose lateral amilotrófica (ALS; doença de Lou Gehrig), doença arterial coronariana, doença autoimune do ouvido, como doença autoimune do ouvido interno (AIED), perda auditiva autoimune, policondrite, como policondrite refratária ou recidivante ou recidivante, proteinose alveolar pulmonar, ceratite, como síndrome de Cogan/ceratite intersticial não-sifilítica, paralisia de Bell, doença/síndrome de Sweet, rosácea autoimune, dor associada ao zoster, câncer amiloido linfocitose, uma linfocitose primária, que inclui linfocitose de células B monoclonais (por exemplo, gamopatia monoclonal benigna e gamopatia monoclonal de significado indeterminado, MGUS), neuropatia periférica, síndrome paraneoplásica, canalopatias como epilepsia, enxaqueca, arritmia, distúrbios musculares, surdez, cegueira, paralisia periódica e canalopatias do SNC, autismo, miopatia inflamatória, focal ou glomeruloesclerose segmentar ou segmentar (FSGS), oftalmopatia endócrina, uveorretinite, corioretinite, distúrbio hepatológico autoimune, fibromialgia, insuficiência endócrina múltipla, síndrome de Schmidt, adrenalite, atrofia gástrica, demência pré-senil, doenças desmielinizantes, como doenças desmielinizantes autoimunes e doença desmielinizante crônica, alopecia desmielinizante crônica, alopecia desmielinizante crônica, alopecia desmielinizante polineuropatia total, alopecia de Dressler Síndrome CREST (calcinose, fenômeno de Raynaud, dismotilidade esofágica, esclerodactilia e telangiectasia), infertilidade autoimune masculina e feminina, por exemplo, devido a anticorpos anti-espermatozoides, doença mista do tecido conjuntivo, doença de Chagas, febre

reumática, aborto recorrente, pulmão de fazendeiro, eritema multiforme, síndrome pós-cardiotomia, síndrome de Cushing, pulmão criador de pássaros, angiite granulomatosa alérgica, angiite linfocítica benigna, Alport's síndrome, alveolite como alveolite alérgica e alveolite fibrosante, doença pulmonar intersticial, reação transfusional, lepra, malária, doenças parasitárias como leishmaniose, cipossomíase, esquistossomose, ascaríase, aspergilose, síndrome de Sampter, síndrome de Caplan, dengue, endocardite, fibrose endomiocárdica, fibrose pulmonar intersticial difusa, fibrose pulmonar intersticial, mediastinite fibrosante, fibrose pulmonar, fibrose pulmonar idiopática, fibrose cística, endoftalmite, eritema elevatum et diutinum, eritroblastose fetal, faciite eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, flariais, ciclite, como ciclite crônica, ciclite heterocrônica, iridociclite (aguda ou crônica) ou ciclite purulenta humana de Fochpuchin infecção pelo vírus da imunodeficiência (HIV), SCID, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), infecção por ecovírus, sepse (síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS)), endotoxemia, pancreatite, tiroxicose, infecção por parvovírus, infecção pelo vírus da rubéola, síndromes pós-vacinação, infecção congênita por rubéola, infecção pelo vírus Epstein-Barr, caxumba, síndrome de Evan, insuficiência gonadal autoimune , Coreia de Sydenham, nefrite pós-estreptocócica, tromboangite ubiterante, tireotoxicose, tabes dorsalis, corioidite, polimialgia de células gigantes, pneumonite de hipersensibilidade crônica, conjuntivite, como catarro primaveril, ceratoconjuntivite sicoconjuntivite sicca, síndrome de nefropatia por cefalorraquidiana mínima lesão benigna familiar e de isquemia-reperfusão, reperfusão de órgão de transplante, autoimunidade retinal, inflamação das articulações, bronquite, via aérea obstrutiva crônica/doença pulmonar, silicose, aftas, estomatite aftosa, distúrbios arterioscleróticos (insuficiência vascular cerebral), como encefalopatia arteriosclerótica e retinopatia arteriosclerótica, aspermiogenese, hemólise autoimune, doença de Boeck, crioglobulinemia, contratura de Dupuytren, endoftalmia facoanafilactica, enterite alérgica, síndrome do eritema nódulo-raquítero-leproso, fadiga facial crônica, hipertrofia de leproma facial, hipertrofia crônica doença, perda auditiva sensoneural, hemoglobinúria paroxismática, hipogonadismo, ileíte regional, leucopenia, mononucleose infecciosa, mielite transversal, mixedema idiopático primário, nefrose, oftalmia

simpática (oftalmite simpática), oftalmite neonatal, neurite óptica, orquite granulomatosa, pancreatite, polirradiculite aguda, pioderma gangrenoso, tireoidite de Quervain, atrofia espênica adquirida, timoma não maligno, timoma linfofolicular, condições envolvendo vitiligo, síndrome de choque tóxico, infiltração de células T, deficiência de adesão de leucócitos, respostas imunes associadas com hipersensibilidade aguda e retardada mediada por citocinas e linfócitos T, doenças envolvendo diapedese de leucócitos, síndrome de lesão de múltiplos órgãos, doenças mediadas por complexo antígeno-anticorpo, doença da membrana basal antiglomerular, poliendocrinopatias autoimunes, ooforite, mixedema primário, gastrite atrófica autoimune, doenças reumáticas, doença mista do tecido conjuntivo, síndrome nefrótica, insulite, falência polendócrina, síndromes poliglandulares autoimunes, incluindo síndrome poliglandular tipo I, doença mista do tecido conjuntivo, síndrome nefrótica, insulite, insuficiência polendócrina, síndromes poliglandulares autoimunes, incluindo síndrome poliglandular tipo I, hipoparatiroidismo idiopático de início em adultos (AOIH), cardiomiopatia como cardiomiopatia dilatada, epidermólise bolhosa aquisita (EBA), hemocromatose, miocardite, síndrome nefrótica, colangite esclerosante primária, sinusite purulenta ou não purulenta, sinusite aguda ou crônica, sinusite etmoide, frontal, maxilar ou esfenoidal, sinusite alérgica, um distúrbio relacionado a eosinófilos, como eosinofilia, infiltração pulmonar eosinofilia, eosinofilia síndrome, síndrome de Loffler, pneumonia eosinofílica crônica, eosinofilia pulmonar tropical, aspergilose broncopneumônica, aspergiloma ou granulomas contendo eosinófilos, anafilaxia, espondiloartropatias, espondiloartrites soronegativas, doença autoimune poliendócrina, colangite esclerosante, esclera, episclera, candidíase mucocutânea crônica, síndrome de Bruton, hipogamaglobulinemia transitória da infância, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de ataxia telangiectasia, angiectasia, doenças autoimunes associadas com doença de colágeno de redução, reumatismo, linfadenite crônica na resposta da pressão arterial, disfunção vascular, lesão tecidual, isquemia cardiovascular, hiperalgesia, isquemia renal, isquemia cerebral, e doença que acompanha a vascularização, distúrbios de hipersensibilidade alérgica, glomerulonefritidas, lesão de reperfusão, distúrbio de reperfusão isquêmica, lesão de reperfusão do miocárdio ou outros tecidos,

traqueobronquite linfomatosa, dermatoses inflamatórias, dermatoses com componentes inflamatórios agudos, falência de múltiplos órgãos, doenças bolhosas, necrose cortical renal , meningite purulenta aguda ou outros distúrbios inflamatórios do sistema nervoso central, distúrbios inflamatórios oculares e orbitais, síndromes associadas à transfusão de granulócitos, toxicidade induzida por citocinas, narcolepsia, inflamação grave aguda, inflamação crônica intratável, pielite, hiperplasia endarterial, úlcera péptica, valvulite e endometriose

**[0311]** A "colonização" de um organismo hospedeiro inclui a residência não transitória de uma bactéria ou outro organismo microscópico. No caso de tratamento, o hospedeiro é geralmente referido neste documento como um "sujeito", tipicamente um humano ou outro mamífero. Tal como utilizado neste documento, "reduzir a colonização" do trato gastrointestinal de um sujeito hospedeiro (ou qualquer outro nicho microbiotal) por uma bactéria patogênica inclui uma redução no tempo de residência do patógeno no trato gastrointestinal, bem como uma redução no número (ou concentração) do patógeno no trato gastrointestinal ou aderido à superfície luminal do trato gastrointestinal. A medição das reduções de patógenos aderentes pode ser demonstrada, por exemplo, por uma amostra de biópsia ou as reduções podem ser medidas indiretamente, por exemplo, pela medição da carga patogênica nas fezes de um hospedeiro mamífero.

**[0312]** Uma "combinação" de duas ou mais bactérias inclui a coexistência física das duas bactérias, seja no mesmo material ou produto ou em produtos fisicamente conectados, bem como a coadministração ou colocalização temporal das duas bactérias.

**[0313]** Uma atividade ou bactéria "citotóxica" inclui a capacidade de exterminar uma célula bacteriana, como uma célula bacteriana patogênica. Uma atividade ou bactéria "citostática" inclui a capacidade de inibir, parcial ou totalmente, o crescimento, o metabolismo e/ou a proliferação de uma célula bacteriana, como uma célula bacteriana patogênica.

**[0314]** Estar livre de "produtos não comestíveis" significa que uma composição bacteriana ou outro material fornecido neste documento não tem uma quantidade substancial de um produto não comestível, por exemplo, um produto ou material que é não comestível, prejudicial ou indesejado em um produto adequado

para administração, por exemplo, administração oral, a um sujeito humano. Produtos não comestíveis são frequentemente encontrados em preparações de bactérias da técnica anterior.

**[0315]** Uma "cultura biologicamente pura" é uma cultura de bactérias em um meio em que apenas espécies viáveis selecionadas estão presentes e nenhuma outra espécie viável de micro-organismos é detectada.

**[0316]** Para ácidos nucleicos, o termo "homologia substancial" indica que dois ácidos nucleicos ou sequências designadas dos mesmos, quando alinhados e comparados de maneira ideal, são idênticos, com inserções ou deleções de nucleotídeos apropriadas, em pelo menos cerca de 80% dos nucleotídeos, pelo menos cerca de 90% a 95% e pelo menos cerca de 98% a 99,5% dos nucleotídeos. Alternativamente, existe uma homologia substancial quando os segmentos hibridam sob condições de hibridação seletiva, para o complemento da cadeia.

**[0317]** Para polipeptídeos, o termo "homologia substancial" indica que dois polipeptídeos ou sequências designadas dos mesmos, quando idealmente alinhados e comparados, são idênticos, com inserções ou deleções de aminoácidos adequadas, em pelo menos cerca de 80% dos aminoácidos, pelo menos cerca de 90% a 95%, ou pelo menos cerca de 98% a 99,5% dos aminoácidos.

**[0318]** A percentagem de identidade entre duas sequências é uma função do número de posições idênticas compartilhadas pelas sequências (*ou seja*, % de homologia = n° de posições idênticas/n° total de posições x 100), levando em consideração o número de lacunas e o comprimento de cada lacuna, que precisa ser introduzida para o alinhamento ideal das duas sequências. A comparação de sequências e a determinação da porcentagem de identidade entre duas sequências podem ser realizadas usando um algoritmo matemático, conforme descrito nos exemplos não limitativos abaixo.

**[0319]** A percentagem de identidade entre duas sequências de nucleotídeos pode ser determinada usando o programa GAP no pacote de software GCG (disponível em worldwideweb.gcg.com), usando uma matriz NWSgapdna.CMP e um peso de lacuna de 40, 50, 60, 70 ou 80 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6. A identidade percentual entre duas sequências de nucleotídeos ou aminoácidos também pode ser determinada usando o algoritmo de E. Meyers e W.

Miller (*CABIOS*, 4: 11-17 (1989)) que foi incorporado no programa ALIGN (versão 2.0), usando uma tabela de resíduos de peso PAM120, uma penalidade de comprimento de lacuna de 12 e uma penalidade de lacuna de 4. Além disso, a identidade percentual entre duas sequências de aminoácidos pode ser determinada usando o algoritmo Needleman e Wunsch (*J. Mol. Biol.* (48): 444-453 (1970)) que foi incorporado no programa GAP no pacote de software GCG (disponível em worldwideweb.gcg.com), usando uma matriz Blossum 62 ou uma matriz PAM250 e um peso de lacuna de 16, 14, 12, 10, 8, 6 ou 4 e um peso de comprimento de 1, 2, 3, 4, 5 ou 6.

**[0320]** As sequências de ácido nucleico e proteínas descritas neste documento podem ainda ser usadas como uma "sequência de consulta" para realizar uma pesquisa em bancos de dados públicos para, por exemplo, identificar sequências relacionadas. Tais pesquisas podem ser executadas usando os programas NBLAST e XBLAST (versão 2.0) de Altschul, *et al.* (1990) *J. Mol. Biol*. 215:403-10. As pesquisas de nucleotídeos BLAST podem ser realizadas com o programa NBLAST, escore = 100, comprimento de palavra = 12, para obter sequências nucleotídicas homólogas às moléculas de ácido nucleico descritas neste documento. As buscas de proteína BLAST podem ser realizadas com o programa XBLAST, escore = 50, comprimento da palavra = 3 para obter as sequências de aminoácido homólogas às moléculas de proteína descritas neste documento. Para obter alinhamentos com lacunas para fins de comparação, o Gapped BLAST pode ser utilizado como descrito em Altschul *et al.*, (1997) *Nucleic Acids Res*. 25(17):3389-3402. Ao utilizar os programas BLAST e Gapped BLAST, os parâmetros padrão dos respectivos programas (por exemplo, XBLAST e NBLAST) podem ser usados. *Consultar* www.ncbi.nlm.nih.gov. Outros métodos de determinação de identidade conhecidos na técnica podem ser usados.

**[0321]** O termo “paciente” inclui humanos e outros mamíferos que recebem tratamento profilático ou terapêutico.

**[0322]** Conforme usado neste documento, o termo "sujeito" inclui qualquer animal humano ou não humano. Por exemplo, os métodos e composições descritos neste documento podem ser usados para tratar um sujeito com câncer. O termo "animal não humano" inclui todos os vertebrados, por exemplo, mamíferos e não

mamíferos, como primatas não humanos, ovelhas, cães, vacas, galinhas, anfíbios, répteis, etc.

**[0323]** Conforme usado neste documento, os termos "ug" e "uM" são usados indistintamente com "µg" e "µM", respectivamente.

**[0324]** Vários aspectos descritos neste documento são descritos em mais detalhes ao longo da especificação.

**[0325]** Salvo indicação em contrário, todos os números expressando quantidades de ingredientes, condições de reação e assim por diante usados no relatório descritivo, incluindo as reivindicações, devem ser entendidos como sendo modificados em todas as instâncias pelo termo "cerca de". Nesse sentido, a menos que indicado o contrário, os parâmetros numéricos são aproximações e podem variar dependendo das propriedades desejadas de serem obtidas. Pelo menos, e não como uma tentativa de limitar a aplicação da doutrina de equivalentes ao escopo das reivindicações, cada parâmetro numérico deve ser interpretado levando em consideração o número de algarismos significativos relatados e aplicando as técnicas de arredondamento comuns.

**[0326]** Os seguintes exemplos são oferecidos a título de ilustração e não a título de limitação. O conteúdo de todas as referências citadas ao longo deste pedido é expressamente incorporado neste documento por referência.

**EXEMPLOS**

Exemplo 1: Efeito da administração de uma preparação de esporos (um HHSP) na eficácia clínica em pacientes com colite ulcerativa

**[0327]** Um estudo multicêntrico de Fase 1b, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo de dose múltipla (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02618187) foi realizado para avaliar a segurança e tolerabilidade de uma composição que compreende uma população de esporos purificada derivada de fezes de doadores humanos saudáveis (HHSP) para o tratamento de colite ulcerosa leve a moderada em pacientes que não tiveram sucesso com o tratamento padrão. Os critérios de inclusão/exclusão específicos estão disponíveis em worldwideweb.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02618187?term=SERES-101&rank=1.

**[0328]** Resumidamente, 58 indivíduos de CU leve a moderada (escore de

Mayo 4-10) foram aleatoriamente designados a um dos quatro braços de tratamento de indução de 8 semanas precedidos por uma fase de pré-tratamento de 6 dias como segue: Braço A) placebo/placebo (n = 11); Braço B) placebo/HHSP semanal (n = 15); Braço C) vancomicina (vanco)/HHSP semanal (qwk) (n = 17); ou Braço D) vanco/HHSP diariamente (qD) (n = 15). A eficácia clínica (*ou seja*, melhora da colite ulcerosa) foi determinada com base em um ou mais dos seguintes critérios: (i) remissão clínica (escore de Mayo Total Modificado (TMM) de ≤2 mais subtotal endoscópico de ≤1); e (ii) melhora endoscópica (diminuição no escore endoscópico ≥1).

**[0329]** As características do paciente no início do estudo são fornecidas na Tabela 1, abaixo.

**Tabela 1**. Características de Linha de Base

| | **Braço A (Placebo/ Placebo) (n=11)** | **Braço B (Placebo/HHSP semanal) (n=15)** | **Braço C (Vanco/HHSP semanal) (n=17)** | **Braço D (Vanco/HHSP Diário) (n=15)** |
|---|---|---|---|---|
| **Escore de Mayo média (linha de base)** | 7,3 | 6,8 | 6,4 | 6,99 |
| **Leve (n)** | 3 (27%) | 6 (40%) | 10 (59%) | 6 (40%) |
| **Moderado (n)** | 8 (73%) | 9 (60%) | 7 (41%) | 9 (60%) |
| **Escore da endoscopia na linha de base** | | | | |
| **Escore = 1** | 1 (9%) | 3 (20%) | 5 (29%) | 3 (20%) |
| **Escore =2** | 5 (45%) | 7 (47%) | 7 (41%) | 9 (60%) |
| **Escore = 3** | 5 (45%) | 5 (33%) | 5 (29%) | 3 (20%) |

Remissão clínica e cura endoscópica

**[0330]** Todos os braços de tratamento em comparação com o Placebo (Braço A) resultaram em aumento da remissão clínica dos pacientes, demonstrando que um HHSP pode ser usado para tratar a colite ulcerosa. O maior impacto na remissão foi observado no Braço D (FIG 1, gráfico à esquerda, vanco/HHSP diariamente) com aproximadamente 40% dos pacientes entrando em remissão. No Braço B (*ou seja*, placebo/HHSP semanal) e Braço C (*ou seja*, vanco/HHSP

semanalmente), aproximadamente 13,3% e 17,7% dos pacientes entraram em remissão, respectivamente. Da mesma forma, todos os braços de tratamento resultaram em melhora endoscópica acima da taxa observada no Placebo; uma percentagem maior de pacientes que receberam a administração diária de HHSP (Braço D, 40%) exibiram melhora endoscópica em comparação com pacientes que receberam placebo sozinho (Braço A, 9,1%) ou administração semanal de um HHSP (Braços B e C, 33,3% e 23,5%, respectivamente). (FIG. 1, gráfico à direita).

**[0331]** Estes dados demonstram que uma composição de esporos derivada das fezes de um humano saudável pode ser usada para melhorar a colite ulcerativa e que os parâmetros de remissão clínica e melhora endoscópica podem ser usados para avaliar a eficácia de uma composição de microbioma para o tratamento da colite ulcerativa. Esses dados também demonstram que um microbioma 'completo', conforme fornecido pela FMT, não é necessário para melhorar efetivamente a CU.

Remissão clínica de longo prazo

**[0332]** Para determinar a eficácia clínica de longo prazo da administração de HHSP na colite ulcerosa, os pacientes que estavam em remissão no final do período de tratamento de indução de 8 semanas, os pacientes tratados em remissão foram acompanhados por mais 26 semanas e o número de remitentes com um o surto da doença foi determinado. A continuidade da remissão após induzir a remissão em um sujeito é chamada de "manutenção."

**[0333]** Conforme mostrado na Tabela 2 abaixo, nenhum dos remetentes teve um surto de CU durante o período de 26 semanas. Isso era verdadeiro independentemente de os pacientes terem recebido HHSP semanalmente (Braços B e C) ou diariamente (Braço D).

**[0334]** Esses dados demonstram que uma composição de microbioma, por exemplo, um HHSP, pode evocar um efeito durável na remissão.

**Tabela 2**. Número de sujeitos remotos com surto de CU

| | **Braço A (Placebo/ Placebo) (n=0)** | **Braço B (Placebo/HHSP semanal) (n = 2)** | **Braço C (Vanco/HHSP semanal) (n = 3)** | **Braço D (Vanco/HHSP Diário) (n = 6)** |
|---|---|---|---|---|
| **Número de** | N/A | 0 | 0 | 0 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **remetentes com surto** | | | | |

Eventos adversos

**[0335]** Como parte do protocolo do ensaio clínico, os eventos adversos foram registrados e avaliados no final do período de indução de 8 semanas. Em geral, os pacientes tratados com um HHSP tiveram menos eventos adversos relacionados ao gastrointestinal em comparação com o controle com placebo. A diferença mais significativa foi observada em pacientes que receberam HHSP diariamente (Braço D), o que é consistente com um efeito dependente da dosagem de um HHSP.

**[0336]** O baixo nível de eventos adversos associados ao tratamento com uma composição de microbioma demonstrou que uma composição de microbioma compreendendo uma população de esporos purificada derivada de fezes de doadores humanos saudáveis pode ser usada com segurança para tratar colite ulcerativa, incluindo CU leve a moderada. A maior diferença nos eventos adversos entre os indivíduos tratados com placebo e tratados foi na categoria de distúrbios gastrointestinais (45,5% no braço do placebo vs. 13,3% no braço do tratamento diário). Esta diferença foi mais proeminente em pacientes que receberam administração diária da população de esporos purificada (45,5% no placebo vs. 13,3% no Braço D).

Exemplo 2: Enxerto e/ou Aumento em Pacientes com Colite Ulcerativa Tratados com uma Preparação de Esporo (HHSP)

**[0337]** Conforme descrito no Exemplo 1, o tratamento de um HHSP foi capaz de fornecer um efeito de tratamento durável em pacientes com CU. Uma vantagem potencial de uma composição de microbioma para o tratamento de doenças é que a composição de microbioma pode fornecer um efeito durável porque pelo menos algumas espécies benéficas da composição de microbioma podem ser enxertadas no sujeito tratado, fornecendo assim uma fonte contínua de funções benéficas e pode facilitar a proliferação de bactérias vantajosas que não estão na composição (aumento). Não apenas a falta de um efeito durável é um problema com os medicamentos que devem ser dosados regularmente para atingir níveis terapêuticos, mas também foi observado que muitos probióticos devem ser

tomados com alta frequência para manter um efeito terapêutico (Walter J., *et al.*, *Curr Opin Biotechnol* 49: 129-139, 2018). A capacidade de enxerto é, portanto, uma característica desejável para bactérias em uma composição de microbioma, permitindo, entre outras características, dosagem menos frequente do que pode ser necessária com um probiótico farmacêutico ou não de enxerto. Uma segunda característica nova de certas composições de microbioma é o aumento de espécies bacterianas benéficas não detectáveis ou presentes em níveis baixos em um paciente antes do tratamento com uma composição de microbioma.

**[0338]** Os candidatos identificaram OTUs ou espécies específicas que enxertam ou aumentam e também estão associadas à remissão. Tais OTUs ou espécies são úteis em composições projetadas para o tratamento e IBD, por exemplo, colite ulcerativa.

**[0339]** Para determinar se uma composição de microbioma pode enxertar e/ou aumentar, métodos genômicos complementares foram usados para caracterizar a microbiota de pacientes com colite ulcerosa no pré-tratamento (linha de base) e até 12 semanas após o tratamento inicial com um HHSP (*ou seja*, até quatro semanas após o último tratamento com um HHSP). Os microbiomas fecais de sujeitos CU e as doses de HHSP foram caracterizados usando o Whole Genome Shotgun Sequencing (WGS). WGS é um método de alta resolução amplamente utilizado e relatado na literatura (por exemplo, Lloyd-Price *et al.*, *Nature* 550: 61-66, 2017) que permite identificações taxonômicas em nível de espécie (Truong *et al.*, *Nature Meth* 12: 203-209, 2015). A abundância relativa de espécies presentes nas amostras fecais e no HHSP foi obtida usando o software de código aberto MetaPhlAn2 (ver 2.6.0) juntamente com uma atualização de banco de dados interno proprietário. Para análises de enxerto, o conjunto de espécies identificadas por MetaPhlAn2 em pacientes CU e HHSP foi filtrado contra um banco de dados proprietário, com curadoria de espécies formadoras de esporos.

**[0340]** Como mostrado na FIG. 2A, uma análise do número de espécies de enxerto identificadas em um HHSP mostrou que o enxerto de espécies de HHSP ocorreu tão cedo quanto 1 semana após a dose inicial de um HHSP em todos os braços de tratamento (*isto é*, Braços B, C e D) em comparação com o controle de placebo (Braço A). As determinações de enxerto foram feitas com base na

avaliação da presença ou ausência de espécies bacterianas formadoras de esporos no HHSP nas fezes de um sujeito após o início do tratamento. O enxerto foi maior em pacientes que foram pré-tratados com vancomicina (por exemplo, Braço B v. Braço C). O maior enxerto foi observado em pacientes que foram pré-tratados com vancomicina e, em seguida, receberam HHSP diariamente. O enxerto também foi durável por pelo menos 4 semanas após a administração final de HHSP (ver 56 dias e 84 dias na FIG. 2A). Curiosamente, como mostrado nas FIGs. 2B e 2C, as espécies de enxerto poderiam ser ainda divididas em aquelas que eram enxertadores de longo prazo (FIG. 2B) e aquelas que eram enxertadores temporários (FIG. 2C). A classificação de uma espécie em enxerto de longo prazo versus transiente foi determinada com base na identificação de dois grupos distintos de espécies de enxerto co-ocorrentes em amostras de pacientes. Enxertos transitórios (TE) atingiram o pico no enxerto 1-2 semanas após o início da dosagem com HHSP e mostram perfis de enxerto semelhantes no Braço C e Braço D. Enxertos de longo prazo (LTE) mostraram uma resposta dependente da dose em pontos de tempo iniciais e permaneceram durável em pacientes pelo menos 4 semanas após a administração da última dose (Visita 13). A Tabela 5 fornece uma lista de diferentes espécies bacterianas que foram identificadas como sendo um enxertador de longo prazo ou transitório. É importante ressaltar que muitas espécies que estavam presentes no HHSP não foram enxertadas em níveis detectáveis, mostrando que o enxerto não é uma propriedade universal das espécies em HHSP.

**[0341]** Esses dados de enxerto refletem os requisitos para interromper um microbioma estável, mas disbiótico, em pacientes com CU. Em muitos sistemas ecológicos, as comunidades são estáveis, exceto quando passam por uma forte perturbação. Neste documento, o pré-tratamento com vancomicina é necessário para interromper o microbioma CU existente e abrir um nicho para o enxerto de bactérias HHSP. Após a ruptura de um sistema ecológico, uma sucessão de comunidades frequentemente aparece antes que uma comunidade de clímax estável final seja alcançada. Comunidades intermediárias, referidas como comunidades serais (ou seres), são frequentemente necessárias para mudar o ambiente, permitindo o estabelecimento de comunidades subsequentes. Após a

interrupção do microbioma CU com vancomicina, as espécies TE formam uma comunidade seral que é seguida pelo estabelecimento das espécies LTE, que formam a comunidade clímax estável. Assim, a intervenção terapêutica durável pode exigir a administração de ambas as espécies TE e LTE (após interromper a comunidade existente com vancomicina); As espécies TE e LTE podem desempenhar papéis distintos que são necessários para alterar o ambiente do trato gastrointestinal na CU.

**[0342]** Apoiando o papel distinto das espécies TE e LTE, a análise genômica comparativa desses dois grupos de espécies mostrou que eles eram funcionalmente distintos. Por exemplo, as vias para o oxigênio e o metabolismo de espécies reativas de oxigênio foram enriquecidas em espécies de TE, incluindo catalase, superóxido dismutase, sistemas de transporte osmoprotetores e redutor de superóxido. Como as espécies reativas de oxigênio são produzidas pelo hospedeiro durante a inflamação, isso pode ser uma característica importante para o enxerto precoce de espécies de TE em um intestino inflamado. A remoção de espécies reativas de oxigênio por espécies TE pode permitir o enxerto subsequente de espécies LTE.

Exemplo 3: Efeito do tratamento no microbioma de pacientes com colite ulcerativa

**[0343]** Para determinar se o aumento do enxerto teve algum efeito sobre o microbioma dos pacientes com colite ulcerosa, a composição formadora de esporos dos microbiomas dos pacientes tratados foi comparada à linha de base (*isto é*, administração pré-HHSP) em vários pontos de tempo após a administração inicial de HHSP. Especificamente, as distâncias binário-Jaccard entre a fração formadora de esporos dos microbiomas em questão e o conteúdo das espécies de dose de HHSP agrupadas foram calculadas para todos os braços em todos os pontos de tempo amostrados. A distância Binary Jaccard varia entre -1 e 1, com 0 indicando amostras que compartilham exatamente o mesmo conjunto de espécies e 1 indicando amostras que não têm espécies em comum. A abundância de espécies não é considerada nos cálculos da métrica. Um valor mais alto para a métrica de similaridade indica maior similaridade entre os microbiomas do sujeito e HHSP.

**[0344]** Como mostrado na FIG. 3, no final do tratamento de terapia de

indução de 8 semanas, a porção formadora de esporos do microbioma dos pacientes dos Braços C (pré-tratamento com vancomicina/HHSP semanal) e D (pré-tratamento com vancomicina/HHSP diário) eram mais semelhantes a aquela da composição HHSP do que a linha de base. Conforme observado com a eficácia clínica (ver Exemplo 1), o efeito foi mais profundo em pacientes que foram pré-tratados com vancomicina e dose diária de um HHSP (Braço D), em comparação com os outros braços de tratamento.

Exemplo 4: Associação de Mudança de Microbioma com Resultado Clínico

**[0345]** O tratamento com uma composição de HHSP alterou a porção formadora e não formadora de esporos do microbioma em remetentes e não remetentes. Outras análises foram conduzidas para determinar se espécies específicas de bactérias estavam associadas à remissão clínica observada nos indivíduos do ensaio clínico. Perfis taxonômicos de microbiomas fecais sujeitos e HHSP obtidos com um banco de dados MetaPhlAn (como descrito *supra*) foram usados para identificar espécies associadas ao resultado clínico no braço D, usando regressão logística bootstrapped lasso.

**[0346]** Os requerentes descobriram que logo 7 dias após a dosagem inicial de HHSP, havia uma distinção clara na prevalência de certas espécies bacterianas presentes em pacientes em remissão (remitentes) e pacientes que não estavam em remissão (não remitentes). Esta distinção persistiu por pelo menos 4 semanas após o final do período de tratamento, consistente com a observação da durabilidade do efeito do tratamento (manutenção) associado ao tratamento com HHSP.

**[0347]** No total, 31 espécies bacterianas diferentes foram identificadas como preditivas do resultado clínico. As espécies identificadas incluíram espécies que estavam presentes em pelo menos algumas composições de HHSP, bem como aquelas que foram aumentadas pelo tratamento (*ou seja*, não estavam presentes na composição de HHSP ou estavam presentes em concentrações abaixo do limite de detecção). Vinte das espécies foram associadas à remissão e 11 foram associadas à não remissão. A Tabela 3 fornece as SEQ ID NOs para uma sequência de 16S rDNA das 31 espécies bacterianas identificadas, juntamente com o nome de uma espécie de referência tendo uma sequência de 16S rDNA com pelo menos 99% de identidade de sequência.

**Tabela 3**. Espécies bacterianas associadas ao resultado clínico

| **Espécie** | **Resultado clínico associado** | **Enxertador ou Ampliador** | **Cepa de referência com ≥99% correspondência de comprimento total com 16S rDNA** | **SEQ ID NO para a sequência de 16S rDNA** |
|---|---|---|---|---|
| *Parasutterella excrementihominis* | Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Parasutterella excrementihominis , cepa YIT 11859* | 68 |
| *Coprobacillus não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 47 |
| *Holdemania não classificado* | Remetente | Enxertador | *Holdemania filiformis, cepa J1-31B-1, Holdemania massiliensis, cepa AP2* | 66, 67 |
| *Bacteroides ovatus* | Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Bacteroides ovatus, cepa JCM 5824* | 19-22 |
| *Akkermansia muciniphila* | Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Akkermansia muciniphila, cepa ATCC BAA-835* | 16-18 |
| *Clostridium leptum* | Remetente | Enxertador | *Clostridiumleptum, cepa DSM 753* | 44, 45 |
| *Roseburia não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 76 |
| *Lachnospiraceae não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 49 |
| *Bilophila não classificado* | Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Bilophila wadsworthia 3 1 6* | 32-36 |

| Espécie | Resultado clínico associado | Enxertador ou Ampliador | Cepa de referência com ≥99% correspondência de comprimento total com 16S rDNA | SEQ ID NO para a sequência de 16S rDNA |
|---|---|---|---|---|
| *Lachnospiraceae não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 50 |
| *Dielma fastidiosa* | Remetente | Enxertador | *Dielma fastidiosa, cepa JC13* | 39 |
| *Roseburia hominis* | Remetente | Enxertador | *Roseburia hominis, cepa A2-183* | 72-75 |
| *Clostridium symbiosum* | Remetente | Enxertador | *Clostridium symbiosum, cepa ATCC 14940* | 51 |
| *Eubacterium siraeum* | Remetente | Enxertador | *Eubacterium siraeum, cepa ATCC 29066* | 59-62 |
| *Butyricoccus não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 48 |
| *Bacteroides vulgatus* | Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Bacteroides vulgatus, cepa JCM 5826* | 23-30 |
| *Clostridium bolteae* | Remetente | Enxertador | *Clostridium Bolteae, cepa JCM 12243* | 41 |
| *Ruminococcaceae não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 64 |
| *Subdoligranulum não classificado* | Remetente | Enxertador | Nenhum | 65 |
| *Clostridium innocuum* | Remetente | Enxertador | *Clostridium innocuum B-3* | |

| Espécie | Resultado clínico associado | Enxertador ou Ampliador | Cepa de referência com ≥99% correspondência de comprimento total com 16S rDNA | SEQ ID NO para a sequência de 16S rDNA |
|---|---|---|---|---|
| | | | *ATCC 14501* | |
| *Lachnospiraceae não classificado* | Não Remetente | Enxertador | Nenhum | 15 |
| *Lachnospiraceae não classificado* | Não Remetente | Enxertador | Nenhum | 83 |
| *Prevotella copri* | Não Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Prevotella copri, cepa JCM 13464* | 69-71 |
| *Faecalicatena contorta* | Não Remetente | Enxertador | *Eubacterium contortum, cepa DSM 3982* | 55-58 |
| *Dialister invisus* | Não Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Cepa Dialister invisus E7.25* | 52-54 |
| *Clostridiales não classificado* | Não Remetente | Enxertador | Nenhum | 37, 38 |
| *Ruminococo Gnavus* | Não Remetente | Enxertador | *Ruminococcus gnavus cepa ATCC 29149* | 77-82 |
| *Erysipelatoclostridium ramosum* | Não Remetente | Enxertador | *Erysipelatoclostridium ramosum cepa JCM 1298* | 46 |
| *Veillonella não classificada* | Não Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Veillonella atypica, cepa KON; Veillonella dispar, cepa ATCC 17748; Veillonella parvula,* | 84-101 |

| Espécie | Resultado clínico associado | Enxertador ou Ampliador | Cepa de referência com ≥99% correspondência de comprimento total com 16S rDNA | SEQ ID NO para a sequência de 16S rDNA |
|---|---|---|---|---|
| | | | *cepa ATCC 10790; Veillonella ratti, cepa JCM 6512; Veillonella criceti, cepa JCM 6511* | |
| *Hungatella effluvii* | Não Remetente | Enxertador | *Cepa Clostridium hathewayi 1313* | 42, 43 |
| *Bifidobacterium dentium* | Não Remetente | Amplia (não formador de esporos) | *Cepa Bifidobacterium dentium B764* | 31 |

**[0348]** As espécies bacterianas na Tabela 3 que estão associadas à remissão são úteis em DEs. Por conseguinte, em algumas modalidades da invenção, uma composição de microbioma compreende pelo menos uma das espécies associadas a remetente identificadas na Tabela 3 ou uma espécie que tem um rDNA 16S que tem pelo menos 97% de identidade com uma espécie associada ao remetente. Em alguns casos, a composição do microbioma é um HHSP. Em outros casos, a composição do microbioma é um DE. Em geral, se a composição for um DE, não inclui uma bactéria associada à não remissão.

**[0349]** Em algumas modalidades, um HHSP ou material usado na fabricação de uma composição de esporos é testado para uma ou mais espécies associadas à não remissão. A presença de tais espécies pode ser usada como um critério para excluir o HHSP ou material em uma composição de microbioma. Em algumas modalidades, um HHSP ou material usado na fabricação de uma composição de esporos é testado quanto à presença de espécies bacterianas associadas à remissão e a presença de uma ou mais dessas espécies é um critério para usar o HHSP ou material na composição do microbioma.

Exemplo 5: Análises Metabolômicas

**[0350]** É conhecido na técnica que várias espécies bacterianas podem ser capazes de realizar funções semelhantes. Os requerentes postularam que, ao identificar as funções-chave das bactérias associadas à remissão, as composições podem ser projetadas que incluem bactérias com tais funções usando bactérias identificadas como associadas à remissão na Tabela 3 e/ou espécies bacterianas não identificadas na Tabela 3, mas de outra forma demonstraram ter uma ou mais funções identificadas. Consequentemente, os Requerentes caracterizaram ainda as assinaturas metabólicas de bactérias associadas à remissão clínica e não remissão em pacientes de todos os braços de tratamento. Suas correlações com as espécies bacterianas identificadas foram determinadas conforme descrito abaixo.

**[0351]** Todos os métodos utilizaram cromatografia líquida Waters ACQUITY Ultra Performance (UPLC®) e um espectrômetro de massa de alta resolução/precisão Thermo Scientific Q-Exactive™ com interface com uma fonte de ionização por eletrospray aquecida (HESI-II) e analisador de massa Orbitrap operado em resolução de massa de 35.000. Quatro combinações diferentes de condições iônicas e cromatograficamente otimizadas foram usadas para capturar uma variedade de compostos hidrofílicos e hidrofóbicos.

**[0352]** A análise MS alternou entre triagem MS e MSn dependentes de dados usando exclusão dinâmica. A faixa da triagem variou ligeiramente entre os métodos, mas cobriu 70-1000 m/z.

**[0353]** Os metabólitos foram identificados por comparação com as entradas da biblioteca de padrões purificados com base no tempo/índice de retenção (RI), relação massa para carga (m/z) e dados cromatográficos (incluindo dados espectrais de MS/MS). Embora possa haver semelhanças entre essas moléculas com base em um desses fatores, o uso de todos os três pontos de dados pode ser utilizado para distinguir e diferenciar os bioquímicos. Os picos foram quantificados usando área sob a curva.

**[0354]** Os resultados dessas análises demonstraram uma forte correlação entre as espécies associadas ao resultado clínico e certos metabólitos. Por exemplo, como mostrado na FIG. 4, pacientes com colite ulcerosa

(independentemente do braço de tratamento) que entraram em remissão tiveram níveis significativamente mais elevados de ácidos biliares 7-α-desidroxilados secundários em sua amostra fecal, em comparação com aqueles pacientes que não entraram em remissão clínica. Dois desses ácidos biliares secundários (ácido desoxicólico e ácido litocólico) foram capazes não só de diminuir a produção de TNF-α, mas também de aumentar a produção de IL-10 pelos PBMCs estimulados por LPS. *Veja* as FIGs. 5A e 5B, respectivamente. Outros exemplos não limitativos de metabólitos associados ao resultado clínico incluem os seguintes: (i) metabólitos derivados de triptofano (por exemplo, indol e 3-metilindol), (ii) ácidos graxos de cadeia média, (iii) endocanabinoides, (iv) esfingolipídeos e (v) quinurenina. Surpreendentemente, certos SCFAs foram associados negativamente à remissão. A forte correlação parece sugerir que essas espécies podem mediar a atividade de metabólitos-chave que estão associados ao resultado clínico. A assinatura metabolômica da remissão clínica incluiu muitas vias funcionais diversas, muitas delas implicadas na doença inflamatória intestinal, por exemplo, colite ulcerativa.

Correlação de metabólitos com resultado clínico

**[0355]** Para confirmar a correlação identificada acima entre as espécies e certos metabólitos, o nível de metabólitos identificados selecionados (*ou seja*, metabólitos de triptofano selecionados (indol e 3-metilindol)) foram comparados entre remetentes e não respondedores de todos os braços de tratamento do ensaio clínico (Braços B, C e D) no final do período de tratamento de 8 semanas.

**[0356]** A análise padrão de perfis taxonômicos e metabolômicos emparelhados geralmente envolve correlação de pares (por exemplo, correlação de Spearman ou Pearson) entre as espécies e a abundância de metabólitos para identificar aquelas espécies cuja abundância está correlacionada com a abundância de metabólitos. Esse tipo de análise correlacional normalmente resulta em grandes grupos de espécies sendo correlacionados com grandes grupos de metabólitos, como foi visto em estudos de coorte e de intervenção. Isso significa que esse tipo de análise correlacional padrão não identifica adequadamente as espécies verdadeiramente mecanicamente envolvidas em uma função metabólica selecionada.

**[0357]** Para abordar a inadequação das análises correlacionais padrão, os

requerentes usaram uma nova abordagem para identificar relações espécie-metabólito específicas em perfis taxonômicos e metabolômicos pareados. As análises computacionais foram realizadas analisando a relação entre (i) a presença e o nível de diferentes metabólitos e (ii) a presença de espécies bacterianas individuais e combinações de espécies bacterianas. Além disso, foram realizadas análises avaliando a abundância relativa de uma espécie bacteriana e de um metabólito.

**[0358]** Conforme mostrado nas FIGs. 6A e 6B, os pacientes com colite ulcerosa que entraram em remissão após a administração de HHSP tiveram níveis mais elevados de indol e 3-metilindol, sugerindo uma correlação positiva entre níveis aumentados desses metabólitos de triptofano e remissão clínica. FIG. 6C explica a grande variabilidade observada para 3-metilindol (FIG. 6B). Níveis aumentados de metabólito de triptofano foram associados a duas espécies bacterianas identificadas nas composições de HHSP: *Ruminococcus bromii* e *Eubacterium siraeum*. Portanto, a variabilidade nos níveis de 3-metilindol visto na FIG. 6B pode ser devido a alguns pacientes com colite ulcerosa tendo zero, uma ou ambas dessas duas espécies bacterianas em seu microbioma GI. Por exemplo, como mostrado na FIG. 6C, os pacientes que tinham ambas as espécies bacterianas em seu microbioma tinham um nível mais alto de 3-metilindol e taxas mais altas de remissão clínica em comparação com aqueles que não abrigavam essas espécies. Estes dados também indicam que em algumas modalidades, a inclusão de *R. bromii* e/ou *E. siraeum em uma* composição de microbioma é vantajosa, por exemplo, para induzir e/ou manter a remissão. Além disso, a inclusão de uma ou ambas as espécies é útil para aumentar a produção de 3-metilindol em um sujeito tratado.

**[0359]** A ativação do AhR está supostamente associada ao fortalecimento da barreira epitelial intestinal e à homeostase da mucosa intestinal por meio da indução de amplas mudanças na expressão gênica. Como mostrado na FIG. 7A, indol e 3-metilindol, que foram associados à eficácia clínica de uma composição de microbioma em pacientes com colite ulcerosa, bem como outros metabólitos relacionados (por exemplo, ácido acético 3-indol e indoleacrilato) induziu expressão de cyp1a1 mediada por AhR em organoides epiteliais intestinais. Um aumento na

expressão de Cyp1a1 é considerado uma medida específica da expressão gênica mediada por AhR. O aumento na expressão de cyp1a1 também ocorreu quando os organoides epiteliais foram tratados com sobrenadantes de bactérias conhecidas por produzirem os metabólitos acima. *Ver* FIG. 7B. Além de metabólitos de triptofano, os sobrenadantes bacterianos também continham uma variedade de SCFAs, MCFAs e BCFAs e SCFAs são relatados para aumentar a expressão de genes responsivos a AhR, indicando que a combinação de ambas as classes de metabólitos pode aumentar os efeitos protetores de cepas bacterianas (Jin UH, *et al.*, *Sci Rep* 7 (10): 10163 (2017)).

**[0360]** Consequentemente, esses resultados indicam que um mecanismo pelo qual as bactérias associadas ao HHSP efetuam uma melhora na CU é restaurando a integridade da barreira epitelial por meio da modulação de metabólitos que induzem a expressão de cyp1a1 mediada por AhR.

**[0361]** Estes dados indicam que uma composição compreendendo bactérias que podem aumentar os níveis de certos metabólitos de triptofano, por exemplo, incluindo, mas não se limitando a indol e/ou 3-metilindol, são úteis para o tratamento de CU.

Exemplo 6: Análise de integridade de barreira

**[0362]** Conforme relatado acima, certas bactérias associadas à remissão de CU podem produzir metabólitos de triptofano particulares e esses metabólitos estão associados a uma barreira epitelial intestinal mais robusta e homeostase da mucosa. A interrupção da função de barreira normal devido à destruição das junções estreitas entre as células epiteliais e apoptose induzida por inflamação crônica é um fator importante na patogênese da doença inflamatória intestinal. A cicatrização da mucosa e o restabelecimento da integridade da barreira estão associados a uma melhora da colite ulcerosa (por exemplo, remissão clínica), bem como a um melhor resultado do paciente (Lee SH *, Intest Res* 13:11-18, 2015). Este efeito foi investigado posteriormente usando várias espécies bacterianas e metabólitos adicionais em ensaios que avaliam a restauração da integridade da barreira.

**[0363]** Os ensaios foram realizados usando um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias. Conforme ilustrado na FIG.

8A e FIG. 8B, o aparelho de ensaio tem um lado apical e um lado basal que são separados por uma monocamada de células epiteliais em uma membrana permeável. A adição de interferon-gama (IFN-γ) interrompe as junções estreitas da monocamada epitelial e induz a apoptose das células epiteliais. O vazamento da membrana pode ser avaliado adicionando-se FITC-dextrano ao lado apical do aparelho e medindo a velocidade com que ele pode passar para o compartimento basolateral. Uma monocamada com vazamento permitirá que o FITC-dextrano chegue ao lado basal do aparelho mais rapidamente do que uma monocamada com uma monocamada intacta.

**[0364]** Resumidamente, o ensaio de integridade de barreira foi conduzido como segue. Culturas organoides de cólon humano primárias estabelecidas a partir de criptas de cólon isoladas foram cultivadas e expandidas em Matrigel® (Corning) e meio condicionado de células L a 50% contendo Wnt3a, R-espondina 3 e Noggin (L-WRN) conforme descrito por VanDussen *et al.* contendo 10uM de Y-27632 e 10uM de SB43152 (*Gut* 64: 911-920, 2015). Organoides do cólon foram colhidos e tripsinizados em uma suspensão contendo poucos clusters de células e semeados em inserções transwell revestidas com Matrigel (Corning) a uma densidade de 100.000 células por inserção em meio L-WRN 50% suplementado com Y-27632 10 µM (Millipore Sigma). Monocamadas de células epiteliais formadas ao longo de 4-5 dias em meio L-WRN 50%. Esta população de células-tronco principalmente foi diferenciada em colonócitos pela troca do meio de cultura para 5% L-WRN por 48 horas. Após 24 horas de diferenciação, tratamentos específicos de SCFA ou de sobrenadante de cultura bacteriana a 5% foram adicionados à interface apical em 100 µL de meio L-WRN a 5% e INFγ 5-25 ng/ml (Peprotech), dependendo do experimento, foi adicionado em 175 µL de meio L-WRN a 5% para a interface basolateral e incubado por 48 horas a 37°C. Após a incubação de 48 horas, a permeabilidade da monocamada epitelial do cólon foi avaliada pela adição de 10 µL de 10 ng/ml FITC-Dextran (4kDa, Sigma) à interface apical, os organoides foram incubados por 1 hora e, em seguida, 100 µL de meio foram coletados o compartimento basolateral de cada transwell e transferido para uma placa de 96 poços para detecção de fluorescência.

**[0365]** Como mostrado na FIG. 9A, começando em uma concentração de

cerca de 5 mM, a adição de ácidos graxos de cadeia curta (butirato e propionato) ou um metabólito de triptofano (ácido 3-indolepropiônico; IPA) restaurou a integridade da barreira sob essas condições. A FIG. 9B demonstra que a adição de certas espécies bacterianas supostamente associadas à remissão clínica (por exemplo, Collinsella *intestinalis*) também pode restaurar a integridade da barreira. A FIG. 9B também mostra que certas bactérias (por exemplo, *Escherichia coli* e *Acidaminococcus sp*. D21) pode ter um efeito deletério na integridade da barreira epitelial. Isso demonstra que a seleção de bactérias para o tratamento de uma IBD pode ser baseada em características funcionais.

**[0366]** Em geral, esses dados demonstram que as bactérias associadas à restauração da integridade da barreira e/ou produzem certos metabólitos associados à restauração da integridade da barreira podem ser úteis para o tratamento da colite ulcerosa. Consequentemente, tais bactérias são úteis em composições bacterianas para o tratamento de condições associadas com integridade da barreira GI prejudicada, como um IBD. Esses dados também indicam que certas bactérias, *Escherichia sp*. E *Acidaminococcus sp* ., podem não ser desejáveis para inclusão em uma composição de microbioma para uso no tratamento de uma condição para a qual a integridade da barreira prejudicada é uma característica.

Exemplo 7: Avaliação dos efeitos anti-inflamatórios em um modelo animal de colite ulcerativa

**[0367]** Para avaliar ainda mais os efeitos de uma composição de microbioma, incluindo uma composição projetada, na remissão clínica, um modelo animal de colite ulcerosa foi usado. Resumidamente, células T não expostos (CD4 + CD45RBhigh) obtidas a partir de camundongos C57Bl /6 do baço (usando o protocolo de separação de células RAG IBD), foram transferidas de forma adotiva para camundongos RAGn12. Dez dias depois, os camundongos foram tratados com antibióticos por via oral por cinco dias para esgotar sua microflora intestinal natural. Começando no dia 14 após a transferência de células T, alguns dos camundongos receberam um total de 21 doses de uma composição de esporos (SP) ou uma composição projetada (DE1) usando gavagem oral. DE1 é uma composição sintética que consiste em 14 espécies bacterianas: *Anaerotruncus*

*colihominis, Blautia producta, Clostridium bolteae, Clostridium disporicum, Clostridium ghonii, Clostridium glycolicum, Clostridium innocuum, Clostridium lactatifermentans, Clostridium viride, Eubacterium sp. WAL 14571, Lachnospiraceae bacterium 3 1 57FA, Lachnospiraceae bacterium oral táxon F15, Lactonifactor longoviformis,* e *Ruminococcus lactaris*. Ao todo, os diferentes grupos experimentais incluíram o seguinte: (i) animais não expostos (sem doença, *ou seja*, sem transferência de células T; n = 5); (ii) controle de doença não tratada (apenas transferência de células T; n = 15); (iii) controle da doença tratada com antibiótico (transferência de células T + apenas tratamento com antibiótico; n = 15); (iv) tratado com HHSP (transferência de células T + tratamento com antibiótico + tratamento com HHSP; n = 15); e (v) tratado com DE1 (transferência de células T + tratamento com antibiótico + tratamento com SP; n = 15). A FIG. 10 fornece um esquema do protocolo.

**[0368]** Como mostrado na FIG. 11, os animais que receberam um HHSP ou DE1 tiveram um escore de patologia significativamente reduzida em comparação com os animais de controle de doença não tratados e os animais de controle de doença tratados apenas com antibiótico. O escore da patologia foi baseado na soma de 4 parâmetros individuais; inflamação, perda da glândula, erosão e hiperplasia (escore 0-5, 0 = normal, 5 = grave). Os dados de expressão do gene nanoestring foram gerados usando o nCounter Mouse Immunology Panel com RNA total isolado do cólon de camundongo. O RNA foi isolado do tecido do cólon armazenado em RNAlater (ThermoFisher) a -80ºC usando um Qiagen RNeasy Plus Mini Kit de acordo com o protocolo do fabricante. O cDNA foi então gerado a partir de RNA total de camundongo usando o sistema de síntese de primeira fita Invitrogen™ SuperScript™ III para análise posterior de RT-qPCR.

**[0369]** Estes dados demonstram que uma composição que compreende bactérias formadoras de esporos derivadas de fezes de um doador saudável ou um subconjunto de espécies formadoras de esporos pode ser eficaz para o tratamento de CU.

**[0370]** Os perfis de expressão do gene NanoString de amostras de cólon de camundongos indicaram diferenças na expressão de vários genes entre os diferentes grupos. Os seguintes genes foram regulados negativamente em animais

tratados com um HHSP em comparação com os animais de controle da doença: (i) ativação de células T (por exemplo *, Ctla4, Il18r1, Cxcl10/11,*Lilrb3/4, Ifng, Nos2), (ii) citocinas pró-inflamatórias (por exemplo*,* Tnf, Il1b, Ifng) e (iii) recrutamento ou ativação de células imunes inatas (por exemplo *, Cxcl1, Cxcl3, Ccl2, Cxcr6, Ltb, Cybb*). Os seguintes genes foram regulados positivamente em animais tratados com HHSP em comparação com os animais de controle da doença: (i) inibição da inflamação (por exemplo *, C4bp, Zeb1, Cd109*) e (ii) moléculas de adesão (por exemplo, *Ncam1, Cd34/36, Fn1, Cdh5, Tjp1, Tjp2 e Ocln*). A diminuição no nível de expressão dos genes de citocinas pró-inflamatórias *Il1b* (FIG. 12A), *Tnfa* (FIG. 12B) e o aumento na expressão dos genes de molécula de adesão *Tjp1* (FIG. 12C), *Tjp2* (FIG. 12D), e *Ocln* (FIG. 12E) foram ainda confirmados por qPCR e/ou ELISA. Os dados de expressão gênica baseados em RT-qPCR foram gerados usando Applied Biosystems™ TaqMan™ Fast Advanced Master Mix no Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex System.

**[0371]** Sem se comprometer com qualquer teoria específica, os dados acima sugerem que tais bactérias podem tratar a colite ulcerosa por meio de várias vias, como alterando a microbiota do paciente, modulando a produção de várias moléculas biológicas (por exemplo, calprotectina fecal, ácidos biliares secundários, metabólitos de triptofano, ácidos graxos de cadeia curta e média, esfignolipídeos e quinurenina). Esses metabólitos e outros produtos do metabolismo bacteriano podem regular globalmente a expressão de diferentes genes imunológicos no cólon, por exemplo, na lâmina própria GI, reduzindo a inflamação e sua histopatologia associada.

Exemplo 8: Avaliação da produção de SCFA por Ensaio de Inibição de HDAC

**[0372]** Os ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) têm sido descritos como desempenhando um papel na regulação da imunidade do hospedeiro. Estudos descreveram padrões alterados de SCFA em pacientes com diferentes doenças gastrointestinais, por exemplo, colite, e a administração de butirato e propionato foi relatada como tendo efeitos terapêuticos em um modelo animal com colite. Tanto in vitro quanto in vivo, os SCFAs mostraram inibir a atividade do desacetilato de histona (HDAC), que pode, por sua vez, regular muitos aspectos de uma resposta imune (por exemplo, indução de células T reguladoras $FoxP3^+$). Portanto, as

bactérias que podem produzir SCFAs podem ser úteis para o tratamento de pacientes com IBD (por exemplo, CU).

**[0373]** Dado que o tipo e o nível de produção de SCFA em fermentações com pastas fecais dependem da fonte de carbono usada (Yang *et al.*, *Anaerobe* 23: 74-81 (2013)), a inibição de HDAC foi avaliada em sobrenadantes de cepas bacterianas cultivadas em uma variedade de fontes de carbono (C) incluindo mono-, di-, polissacarídeos e mucina suína. Para esses experimentos, culturas de 600 µL em meio de peptona/extrato de levedura (PY) sozinho ou suplementado com 0,5% de uma das sete fontes de C (glicose, fucose, sacarose, amido, pectina, FOS/inulina ou mucina) foram inoculadas em 96 placas profundas e crescidas anaerobicamente por 4 dias. As células microbianas foram peletizadas por centrifugação e os sobrenadantes foram usados para o ensaio de inibição de HDAC (kit de ensaio HDAC-Glo I/II, Promega) e extrato nuclear HeLa (Promega) como fonte de enzimas HDAC. Os ensaios foram realizados com 15 µL de sobrenadante, 10 µL de Tris 1M pH 8, 75 µL de tampão de ensaio contendo extrato nuclear de HeLa diluído que foram pré-incubados por 15 minutos antes da adição do reagente revelador. A luminescência foi medida após 20 minutos. Nessas condições, um sobrenadante estéril adicionado de butirato 15 mM resultou em 65-75% de inibição de HDAC.

**[0374]** Como mostrado na FIG. 13, uma série de cepas bacterianas foram associadas à capacidade de inibir a atividade de HDAC. As bactérias foram agrupadas em um dos sete clusters fenotípicos (representados como 0-6 na FIG. 13) com base em sua capacidade de inibir a atividade de HDAC quando cultivadas em diferentes fontes de nutrientes (denominados neste documento "clusters de HDAC"). Por exemplo, Cluster 0 corresponde a cepas que foram capazes de inibir HDAC quando cultivadas em fucose (um açúcar encontrado como um componente de glicoproteínas de mucina), mas não em outros substratos. Essas cepas utilizam fucose como substrato para a produção de propionato, mas não aminoácidos presentes no meio basal ou outros carboidratos simples e complexos adicionados em outras condições. O cluster fenotípico 5 corresponde a cepas que inibiram HDAC quando cultivadas apenas na presença de açúcares simples ou amido. O Cluster 4 fenotípico corresponde a cepas que inibiram o HDAC em todas as condições, mas sua atividade não aumentou pela adição de açúcares ou

polissacarídeos. Assim, embora muitas cepas bacterianas tenham a capacidade de inibir HDAC, elas foram capazes de expressar essa capacidade apenas na presença de certos substratos (por exemplo, fucose, mucina ou amido).

**[0375]** Os dados acima indicam que para maximizar a produção de SCFA *in vivo*, pode ser útil incluir em uma composição bacteriana para o tratamento de uma doença inflamatória (por exemplo*,* colite ulcerativa) pelo menos uma bactéria representativa de cada um dos clusters fenotípicos. A composição DE1 descrita acima no Exemplo 7 é um exemplo de tal composição (*ou seja,* inclui pelo menos um representante por cluster HDAC). Em algumas modalidades, as bactérias de uma composição de microbioma são, coletivamente, capazes de utilizar pelo menos 2, 3, 4, 5, 6 ou 7 dessas fontes C.

Exemplo 9: Atividade anti-inflamatória com células epiteliais intestinais

**[0376]** O nível de IL-8 é geralmente elevado na mucosa intestinal inflamada de pacientes com colite ulcerativa. Consequentemente, a capacidade de suprimir a indução de IL-8 em células epiteliais intestinais é uma leitura relevante para a identificação de espécies bacterianas que podem modular a resposta imune inata anti-inflamatória em pacientes com CU. Resumidamente, as células HT29 (uma linha de células epiteliais derivadas de um carcinoma colorretal), cultivadas em meio McCoys suplementado com 10% de FBS, GlutaMAX e Pen/Strep foram plaqueadas a uma densidade de 50k células/poço em formato de 96 poços e permitidas a crescer por 5 dias até totalmente confluente. O meio de cultura foi trocado a cada dois dias. No dia 5, as células foram pré-tratadas por 1 hora com um metabólito bacteriano (butirato, propionato ou acetato; FIG. 14A) ou com sobrenadantes bacterianos (10% em meio de cultura de células; FIG. 14B) antes da exposição a 1,25 ng/ml de TNF-α humano recombinante (Peprotech). As células foram incubadas durante 4 horas. Os sobrenadantes da cultura foram recolhidos e testados para a proteína IL-8 humana por ELISA (sistemas R&D) ou AlphaLISA (Perkin Elmer). Os níveis de IL-8 das amostras de teste foram normalizados para controles inflamatórios que eram amostras pré-tratadas com meio de cultura bacteriana em branco de 10% que foram expostas a 1,25 ng/ml de TNF-α. Para medir a capacidade pró-inflamatória de cepas bacterianas individuais, as concentrações de IL-8 humana foram medidas em sobrenadantes de cultura de

células tratados com 10% de sobrenadante bacteriano na ausência de estimulação de TNF-α.

**[0377]** Como mostrado na FIG. 14A, o tratamento dos IECs com qualquer um dos ácidos graxos de cadeia curta testados (*isto é*, butirato, propionato ou acetato) resultou em níveis reduzidos de secreção de IL-8 dependente de TNF-α. É importante notar que os sobrenadantes de um HHSP cultivado *in vitro* também foram capazes de inibir a secreção de IL-8 por IECs de uma maneira dependente da dose (*ver* FIG. 14B), demonstrando a capacidade de uma composição de microbioma para reduzir a inflamação, por exemplo, em um IBD tal como colite ulcerosa.

**[0378]** Como as bactérias também podem induzir IL-8 diretamente por meio da ativação do receptor do tipo toll (TLR), um ensaio pró-inflamatório foi desenvolvido para identificar cepas bacterianas com essa capacidade (*ou seja,* bactérias capazes de ativação de IL-8 independente de TNF-α). Essas cepas podem ser pró-inflamatórias *in vivo*, exacerbando a inflamação em pacientes com colite ulcerativa. Consequentemente, pode ser indesejável incluir em uma composição de microbioma uma cepa bacteriana que pode exibir esta atividade.

**[0379]** Conforme mostrado nas FIGs. 15A e 15B, muitos dos sobrenadantes (cada círculo representa um sobrenadante individual) exibiram a capacidade de modular (por exemplo, diminuir) a secreção de IL-8 dependente de TNF-α (eixo y) e a atividade anti-inflamatória geralmente correlacionada com inibição da atividade HDAC dos sobrenadantes (eixo x). No entanto, alguns dos sobrenadantes não tiveram atividade anti-inflamatória em IECs, apesar de terem atividade inibitória de HDAC, ou mesmo resultaram em produção adicional de IL-8 em relação à induzida por TNF-α (*ou seja*, estes eram pontos onde o anti-inflamatório de IL-8 atividade, no eixo y, não se correlacionou com a inibição de HDAC, no eixo x). A maioria desses outliers eram sobrenadantes com atividade no ensaio pró-inflamatório (cinza claro); ou seja, essas cepas resultaram na secreção de IL-8, que pode diminuir ou até mesmo superar os efeitos anti-inflamatórios de sua inibição da atividade de HDAC. Além disso, a variabilidade do nível de cepa foi observada nas propriedades pró-inflamatórias de cepas intimamente relacionadas, indicando que as atividades do ácido biliar e as propriedades pró-inflamatórias nem sempre são

conservadas entre as diferentes cepas da mesma espécie (pelo menos entre *as* espécies Lachnospiraceae) (FIG. 17). Resultados semelhantes foram observados para a atividade Wnt (FIG. 16).

**[0380]** Estes resultados ressaltam o fato de que a atividade anti-inflamatória não é uma propriedade inerente das cepas bacterianas que produzem SCFAs e inibem HDAC, mas sim que as cepas precisam ser testadas, por exemplo, diretamente em ensaios baseados em células para identificar aquelas com atividade pró-inflamatória por conta própria. Esses dados demonstram que, ao construir uma composição de microbioma, embora bactérias intimamente relacionadas (por exemplo, espécies ou OTUs) possam normalmente compartilhar características funcionais que levam a, por exemplo, atividades pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, pode ser vantajoso testar a cepa específica para ser usado em uma composição, bem como em toda a composição, para definir o conjunto apropriado de funções para a modulação imunológica.

Exemplo 10: Determinação de SCFA e perfis de metabólito de triptofano em sobrenadantes de cepa única

**[0381]** Como descrito *supra,* certos metabólitos de triptofano (Trp) foram associados à remissão em pacientes tratados com um HHSP. Consequentemente, o Requerente testou várias espécies bacterianas quanto à presença de SCFA ou metabolitos de triptofano nos seus sobrenadantes. A presença de metabólitos de triptofano foi determinada usando um ensaio colorimétrico para detecção de compostos indólicos (Indol Reagent, Anaerob Systems). O indol produz uma cor azul clara neste ensaio, enquanto outros metabólitos Trp produzem uma cor roxa. A presença de SCFAs foi testada usando o ensaio HDAC (descrito supra). Os sobrenadantes de cepas selecionadas que foram identificadas como produtoras de metabólitos de Trp pelo ensaio de indol colorimétrico e/ou produtores de SCFAs pelo ensaio de HDAC foram posteriormente analisados por GC-MS para identificar os metabólitos específicos produzidos.

**[0382]** Os resultados da análise de SCFA são mostrados na FIG. 18 e os resultados dos metabólitos de Trp são mostrados na FIG. 19. Muitos sobrenadantes bacterianos continham um ou mais dos SCFAs geralmente associados na literatura com atividade anti-inflamatória (butirato e propionato) (*ver* FIG. 18).

**[0383]** Além disso, várias espécies bacterianas produziram ácidos graxos de cadeia ramificada, 2-metil-propanoato, 3-metil-butanoato e 3-metil-pentanoato, que são produzidos por fermentação bacteriana de aminoácidos ramificados e mostraram ter atividade inibitória de HDAC.

**[0384]** Diversas espécies foram identificadas como produtoras de ácidos graxos de cadeia média (MCFAs), por exemplo, valerato e hexanoato, ambos os quais foram surpreendentemente correlacionados com a eficácia nos dados clínicos metabolômicos e, portanto, são espécies que os produzem candidatos para uso no tratamento de CU. As espécies produtoras de *valerato incluíram Anaerotruncus colihominis, Clostridium sporogenes, Flavonifractor plautii, Peptostreptococcus anaerobius* e *Peptostreptococcus stomatis*. As cepas produtoras de *hexanoato incluem Anaerotruncus colihominis, Clostridium sporogenes, Flavonifractor plautii, Clostridium glycolicum, Clostridium innocuum* e *Roseburia intestinalis*.

**[0385]** Coletivamente, os dados acima indicam que os atributos funcionais das bactérias podem ser utilizados para identificar espécies bacterianas que podem ser usadas para tratar uma doença e direcionar múltiplas vias do hospedeiro, como a colite ulcerosa. O resumo do perfil fenotípico de diferentes cepas bacterianas divulgadas neste documento é fornecido na Tabela 4, abaixo.

Exemplo 11: atividade da catalase

**[0386]** As condições inflamatórias associadas a uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, IBD) resultam em uma grande abundância de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são tóxicas para muitos organismos comensais. Por exemplo, as células epiteliais intestinais de pacientes com CU e doença de Crohn podem expressar altos níveis de DouxA, que libera peróxido de hidrogênio no lúmen. ROS adicionais podem ser liberados por macrófagos ativados. Algumas bactérias têm enzimas de desintoxicação de ROS, como a catalase e a superóxido dismutase, que lhes permitem sobreviver em condições inflamatórias e, portanto, podem ser particularmente bem adaptadas para enxerto em pacientes com CU.

**[0387]** As culturas de um grande número de simbiontes bacterianos foram testadas para a atividade da catalase pela adição de 5 ul de solução de peróxido de hidrogênio a 30%. A atividade catalítica foi detectada pelo aparecimento de

bolhas de oxigênio nas culturas. Apenas 19 cepas de aproximadamente 400 cepas testadas foram positivas para a atividade da catalase, indicando que esta é uma função rara entre as espécies selecionadas. Exemplos não limitativos de espécies positivas para catalase incluem *Bacteroides sp. 1 1 6, Bacteroides sp. 1 1 30, Bacteroides ovatus, Bacteroides intestinalis, Bacteroides faecis, Bacteroides salyersiae, Bacteroides eggerthii, Eggerthella lenta, Lachnospiraceae bacterium 5 1 57FAA, Clostridium lavalense, Ruminococcus gnavus* e *Clostridium hathewayi*. A inclusão de uma ou mais dessas espécies em uma composição bacteriana (por exemplo, aquelas divulgadas neste documento) pode ser benéfica para a sobrevivência da composição bacteriana administrada em um paciente que sofre de uma doença ou distúrbio divulgado neste documento (por exemplo, CU e doença de Crohn).

Exemplo 12: Ativação da via Wnt por sobrenadantes bacterianos

**[0388]** As células do epitélio intestinal são constantemente reabastecidas para manter a homeostase do tecido. A renovação do tecido é impulsionada por um compartimento de células-tronco intestinais ativo que é dependente da ativação da via Wnt. As células-tronco intestinais são extremamente sensíveis ao Wnt devido à expressão específica de Lgr5. Lgr5 forma um complexo correceptor R-espondina com ZNRF3, uma membrana E3 ubiquitina ligase e regulador de feedback negativo da via Wnt que tem como alvo o receptor Wnt para remoção da superfície celular. Na presença de R-espondina, as células-tronco intestinais Lgr5 + mantêm níveis elevados do receptor Wnt, Frizzled, na superfície celular, permitindo a ativação sustentada da via (Clevers *et al. Science*. 2014). Foi demonstrado que o R-Espondina protege o epitélio intestinal após a lesão, promovendo a recuperação do tecido impulsionada pelas células-tronco intestinais (Takashima *et al., The Journal of Experimental Medicine*. 2011).

**[0389]** Para avaliar se a amplificação da ativação da via Wnt em células-tronco intestinais por bactérias comensais poderia contribuir para fortalecer a barreira epitelial e a homeostase do tecido, foi utilizada uma linhagem celular repórter da via Wnt (HEK 293 STF (ATCC CRL-3249)). A linhagem celular foi usada para avaliar a capacidade dos sobrenadantes e metabólitos da cultura bacteriana de ativar o repórter de maneira semelhante à R-espondina. A adição de compostos

estimuladores da via Wnt, como a proteína Wnt3a ou R-Espondina, as células HEK 293 STF em cultura levam à produção de luciferase que pode ser medida por detecção de luminescência. Para medir a capacidade dos sobrenadantes bacterianos para aumentar a ativação da via Wnt, células HEK 293 STF cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de FBS, GlutaMAX e Pen/Strep foram semeadas a uma densidade de 50k células por poço em formato de 96 poços e permitidas a crescer por 3 dias até a confluência total. O meio de cultura foi trocado a cada dois dias. No dia 3, as células foram tratadas com sobrenadante bacteriano a 10% em meio condicionado Wnt3a (produzido a partir de células L-Wnt3a ATCC CRL-2647) e incubadas durante a noite. Suplemento de meio condicionado por Wnt3a com 250 ng/ml de R-espondina humana recombinante (R&D systems Cat#4645) foi usado como um controle positivo para ativação da via de Wnt potencializada. Após a incubação do tratamento, o reagente de detecção de luciferase Bright-Glo (Promega) foi adicionado a todos os poços e incubado por 20 minutos em temperatura ambiente. A luminescência foi medida usando um leitor de placas multimodo Perkin Elmer Envision. Os sobrenadantes de DEs cultivados in vitro ativam diferencialmente o repórter HEK 293 STF quando adicionados ao meio condicionado por Wnt3a. Como visto na FIG. 16, os sobrenadantes bacterianos foram capazes de potencializar a expressão da via de Wnt e houve uma correlação positiva entre a inibição de HDAC e a ativação de Wnt. Estes resultados demonstram que a inclusão de espécies bacterianas capazes de aumentar a ativação da via de Wnt no projeto de uma composição bacteriana pode ser benéfica no tratamento de doenças caracterizadas por dano epitelial, como as divulgadas neste documento (por exemplo, UC e doença de enxerto-versus-hospedeiro).

Exemplo 13: Projeto de Composições Bacterianas e Triagem de Propriedades Funcionais

**[0390]** Ao projetar as composições bacterianas da presente divulgação, as composições foram construídas para ter um ou mais dos seguintes recursos: (1) capaz de enxertar (a longo prazo e/ou transitoriamente) uma ou mais espécies quando administradas a um sujeito; (2) capaz de ter atividade anti-inflamatória (por exemplo, inibir a secreção de IL-8 induzida por TNF-α em células epiteliais *in vitro*, e/ou capacidade de modular negativamente a expressão de genes inflamatórios

(por exemplo, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL11, ICAM1)); (3) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória (por exemplo, não induz a produção de IL-8 por IECs); (4) capaz de produzir ácidos biliares secundários (por exemplo, atividade de 7α-desidroxilase e hidrolase de sal biliar); (5) incapaz de produzir ácido ursodesoxicólico (por exemplo, atividade da 7β-hidroxiesteroide desidrogenase) (6) capaz de produzir metabólitos de triptofano (por exemplo, indol, 3-metil indol, ácido indolpropiônico); (7) capaz de produzir ácidos graxos de cadeia média (por exemplo, valerato e hexanoato) e/ou de cadeia curta (por exemplo, butirato e propionato); (8) capaz de inibir a atividade de HDAC quando cultivada com pelo menos uma fonte de carbono; (9) incluem espécies pertencentes a um ou mais cluster de HDAC; (10) capaz de restaurar a integridade epitelial, conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira em monocamada de célula epitelial primária; (11) possuem espécies bacterianas que são capazes de estar associadas à remissão clínica de uma doença inflamatória intestinal; (12) carência de espécies bacterianas que são capazes de estar associadas à não remissão de uma doença inflamatória intestinal; (13) capaz de expressar a atividade de catalase; (14) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase; (15) capaz de induzir ativação de Wnt; e (16) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll, por exemplo, receptor do tipo toll 5 (TLR5) e/ou receptor do tipo toll 4 (TLR4). Isso foi conseguido incluindo uma ou mais espécies bacterianas com os recursos acima nas diferentes composições projetadas.

**[0391]** No total, trinta e oito (38) composições diferentes projetadas foram construídas (DE1-DE38) e triadas quanto a propriedades funcionais exibidas quando cultivadas como uma comunidade bacteriana in vitro como segue. As composições bacterianas projetadas foram misturadas em razões iguais em ~1-5x$10^7$ unidades formadoras de colônias (CFU)/ml de bactérias vegetativas e ~1x$10^4$-1x$10^5$ CFU/ml de bactérias formadoras de esporos (quando relevante) e congeladas em 15% de glicerol. Para o cultivo, as composições bacterianas foram descongeladas, o glicerol foi removido, e a mistura foi germinada em 0,5% de BHI/Oxgall por 1 hora em temperatura ambiente quando continham preparações de esporos. As composições contendo bactérias vegetativas foram germinadas. O germinante foi então lavado, e as culturas foram diluídas até uma concentração

final de $5x10^7$ cfu/ml e plaqueadas como réplicas biológicas em um meio de cultura fecal 4 (FCM4) derivado sinteticamente, que suporta o crescimento de muitas bactérias anaeróbicas do intestino. Em experimentos em que a produção de ácido biliar secundário por comunidades bacterianas foi testada, FCM4 foi suplementado com ácidos biliares conjugados (ácido glicocólico, ácido taurocólico, ácido glicocenodesoxicólico e ácido tauroquenodesoxicólico) a uma concentração final de 50 uM. As culturas bacterianas foram incubadas anaerobicamente a 37 °C por 7 dias, após os que sua biomassa foi medida por absorbância de 100 µL de cultura a 600nm. A cultura restante foi centrifugada a 4000rpm, os sobrenadantes passaram por um filtro de 0,2uM e usados em ensaios bioquímicos e baseados em células. Ensaios de inibição de HDAC, ensaio pró-inflamatório em IECs, ensaio anti-inflamatório em IECs, ensaio de integridade epitelial e ensaio de ativação de Wnt, determinação de SCFAs, MCFAs e metabólitos de triptofano Tr foram realizados conforme descrito nos exemplos anteriores. Para a determinação dos metabólitos do ácido biliar, 100µL do sobrenadante isento de células bacterianas foram então extraídos com um volume igual de acetonitrila e filtrados em um filtro de 0,2 µm, gerando amostras para análise por LC-MS. Os ácidos biliares foram separados usando uma HPLC Agilent 1260 equipada com uma coluna Microsolv bidentate C18 precedida por um filtro de pré-coluna de 0,2 µm. A separação foi alcançada usando um gradiente de água e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico a uma taxa de fluxo de 0,4 ml/minuto. As amostras foram injetadas a um volume de 5 µL. O sistema HPLC foi acoplado a um espectrômetro de massa Bruker Compass™ qTOF calibrado para uma taxa de massa de 50 a 1700 m/z usando a mistura de ajuste de baixa massa da Agilent. Cada execução foi adicionalmente calibrada para uma solução de massa de referência injetada no início de cada execução. Os ácidos biliares foram detectados em modo negativo e identificados por m/z exclusivos e tempos de retenção em comparação com padrões puros conhecidos. A área sob o pico foi determinada usando o software de análise de dados Bruker. Os metabólitos foram quantificados usando curvas de calibração geradas a partir de padrões puros, variando em concentração de 0,001 µM a 100 µM.

**[0392]** Os sobrenadantes dos DEs também foram testados quanto à sua capacidade de ativar as vias de TLR4 e TLR5. Receptores do tipo Toll (TLRs) são

receptores de reconhecimento de padrões (PRR) que se ligam a padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), como componentes da parede celular bacteriana, ou seja, peptidoglicanos, lipopolissacarídeos, proteínas de superfície, etc. Os receptores de TLR4 e TLR5 são conhecidos por se ligarem a antígenos e induzem uma resposta pró-inflamatória. O TLR4 se liga ao lipopolissacarídeo (LPS), que está presente nas bactérias gram-negativas, enquanto o TLR5 se liga à flagelina (FLA), encontrada nas bactérias móveis. Prevemos que composições bacterianas projetadas que excluem cepas bacterianas gram-negativas e indutoras de IL-8 não devem ativar TLR4 ou TLR5. Utilizamos linhagens celulares de repórter de receptor TLR, HEK-Blue hTLR4 (Invivogen, cat#hkb-htlr4), hTLR5 (Invivogen, cat#hkb-htlr5) para avaliar a capacidade dos sobrenadantes de cultura bacteriana e metabólitos para ativar os repórteres de TLR4 e TLR5. As células HEK-Blue Null1 (Invivogen, cat#hkb-null1) foram incluídas como uma linhagem celular de repórter de controle para o receptor de TLR expresso endogenamente na linhagem celular parental de HEK 293 que permitiu a medição do sinal HEK-Blue de fundo. Linhagens celulares de repórter TLR de HEK-Blue são cotransfectadas com um plasmídeo projetado para superexpressar um determinado receptor TLR e um gene de Fosfatase Alcalina Secretada (SEAP) sob o controle dos promotores de NF-kB e AP-1 (Invivogen). A ativação do determinado repórter de TLR leva à secreção de SEAP em solução, que é medida pela absorbância (655 nm). Para medir a ativação de TLR4 e TLR5 pelos sobrenadantes bacterianos, células HEK-Blue hTLR4, hTLR5 e HEK-Blue Null1 cultivadas em meio de DMEM suplementado com 10% de FBS, GlutaMAX e Pen/Strep foram semeadas a uma densidade de 50.000 células/poço em formato de 96 poços e foi deixado que atingissem 100% de confluência após 5-7 dias em cultura. O meio de cultura foi substituído a cada dois dias. Uma vez que os poços estavam 100% confluentes, as células foram tratadas com 10% de sobrenadante bacteriano em meio de cultura celular e incubadas durante a noite. Para o controle positivo do ensaio de repórter de HEK-Blue hTLR4, usamos meio de cultura celular suplementado com 100 ng/ml de LPS-EK (Invivogen cat#tlrl-peklps) e meios de 10% de FCM4+. Para o controle positivo do ensaio do repórter HEK-Blue hTLR5 usamos meio de cultura de células suplementado com 60 ng/ml de FLA-BS

(invivogen cat#tlrl-pbsfla) e meios de 10% de FCM4+. Cada linhagem celular de repórter TLR tinha uma placa de Null com o mesmo tratamento e controle positivo respectivo. Após a incubação de tratamento durante a noite, HEK-Blue Detection Media (Invivogen, cat#hb-det3) foi adicionado a todos os poços e incubado por 2 horas a 37 °C, 5% de CO2. A secreção de SEAP foi medida como absorbância (655 nm) usando um leitor de placas Spectramax.

**[0393]** Os sobrenadantes de composição bacteriana também foram avaliados quanto à sua capacidade de modular a expressão gênica em organoides do cólon humano primários como segue. Culturas de organoide de cólon humano primário estabelecidas a partir de criptas de cólon isoladas foram cultivadas e expandidas em Matrigel® (Corning) e meio condicionado de 50% de células L contendo Wnt3a, R-espondina 3 e Noggin (L-WRN) conforme descrito por VanDussen *et al.* (*Gut* 64:911-920, 2015).Organoides do cólon foram cultivados em placas de 24 poços por 5 dias em meio de 50 % de L-WRN. Após 5 dias de formação da estrutura de mini-intestino em meio de 50% de L-WRN, meio de cultura de organoide foi trocado para meio de 5% de L-WRN para induzir a diferenciação dos organoides. Após 24 horas em meio de 5% de L-WRN, os organoides foram tratados com sobrenadantes de 10% de DE em meio de 5% de L-WRN fresco suplementado com a citocina inflamatória 12,5 ng/ml de TNFa humano (Peperotech). As condições de controle incluem organoides tratados com meio de 5% de L-WRN + 10% de cultura bacteriana e meio de 5% de L-WRN + 10% de cultura bacteriana + 12 ng/ml de TNFa humano. Os organoides foram incubados em condições de tratamento durante a noite e, em seguida, coletados em tampão RLT da Qiagen para análise de RNA. Os lisados de amostra foram purificados em RNA usando o kit Qiagen RNeasy mini prep ou os lisados foram analisados diretamente na plataforma Nanostring nCounter.

**[0394]** A Tabela 6 resume o número de cepas que possuem várias dessas propriedades nas composições projetadas exemplificativas divulgadas neste documento. A Tabela 6 descreve o número de cepas presentes em consórcios: a) com fenótipos de inibição de HDAC (linhas HDAC cluster 0, HDAC cluster 1, HDAC cluster 2, HDAC cluster 3, HDAC cluster 4, HDAC cluster 5, HDAC cluster 6), b) que produzem ácidos graxos de cadeia curta e de cadeia média (linhas Ácido

propanoico, Ácido butanoico, Ácido pentanoico, Ácido hexanoico), c) que produzem metabólitos de triptofano (linhas indol, 3-metil indol, ácido 3-indol-crílico), d) que possuem atividade metabólica de ácido biliar (linhas BSH gCA [para atividade de hidrolase de sal biliar em ácido glicocólico], BSH tCA [para atividade de hidrolase de sal biliar em ácido taurocólico], BSH gCDCA [para atividade de hidrolase de sal biliar em ácido glicocenodesoxicólico], BSH tCDCA [para atividade de hidrolase de sal biliar em ácido taurocenodesoxicólico], 7aD CA [para atividade de 7α-desidroxilase em ácido cólico], 7aD CDCA [para atividade de 7α-desidroxilase em ácido quenodesoxicólico], 7bHSDH UDCA [para atividade de 7β-hidroxisteroide desidrogenase em CDCA], e) que expressam a atividade da catalase (linha Catalase), f) que possuem atividade de fucosidase (linha a-L-Fucosidase), g) que induzem IL-8 (linha IL8 Inflamatória), h) que são enxertadores de longo prazo (linha LTE) ou enxertadores transitórios (linha TE); i) que estão associados a remissão clínica (linha Associado a Remissão) ou não remissão (linha Associado a Não Remissão).

**[0395]** As FIGs. 30, 31 e 32 identificam as espécies bacterianas incluídas nas diferentes composições projetadas. Dependendo de sua constituição de espécies bacterianas, as composições bacterianas projetadas exibiram atividade funcional variável - *ver,* por exemplo*,* FIGs. 20B, 21B e 24B (inibição da atividade de HDAC); FIGs. 20C, 21C e 22C (atividade anti-inflamatória); FIGs. 20D, 21E e 22D (atividade pró-inflamatória); FIGs. 20E, 21D e 22E (restauração da integridade epitelial); FIGs. 20I-20L, 21H-21K e 22F-22H (produção de ácidos graxos de cadeia curta e cadeia média); FIGs. 20M, 21L, 21M, 22I e 22J (produção de metabólito de triptofano); FIGs. 21N-21P e 22K-M (produção de ácido biliar secundário); FIGs. 20N-20Q, 22N e 22P (regulação de genes associados à resposta inflamatória); FIGs. 20R-20T (regulação de genes associados à ativação de Wnt); e as FIGs. 20G, 20H, 21F, 21G, 22Q e 22R (ativação de uma via de receptor do tipo toll). E, como mostrado nas FIGs. 25A e 25B, muitas das composições projetadas divulgadas neste documento eram semelhantes ou melhores na produção de indol e ácido butanoico (metabólitos associados a respostas anti-inflamatórias) em comparação com FMT e até mesmo certos produtos de esporos humanos saudáveis (DXE).

**[0396]** Das trinta e oito (38) composições projetadas diferentes que foram

construídas (DE1-DE38), 36 foram projetadas para ter propriedades benéficas para UC, enquanto duas (DE9 e DE38) foram projetadas para incluir propriedades deletérias, como a inclusão de cepas com forte atividade pró-inflamatória no ensaio de IEC para testar a importância de excluir tais cepas de composições terapêuticas. Os resultados apresentados neste documento mostraram claramente que as duas composições de controle negativo (DE9 e DE38), apesar de terem atividade inibitória de HDAC, não suprimiram a produção de IL8 induzida por TNFalpha, estimularam IL8 por conta própria e não conseguiram suprimir a disrupção das monocamadas primárias epiteliais causadas por interferon gama. Além disso, as composições de controle negativo foram positivas no ensaio de ativação de TLR4 e TLR5 (FIGs. 20G e 20H) e não conseguiram suprimir a expressão de genes pró-inflamatórios induzida por TNFa em organoides do cólon (FIG. 20C). Em contraste, todas as outras 36 composições testadas não exibiram qualquer uma dessas funções deletérias, demonstrando a importância de excluir cepas indutoras de IL8 das composições conforme descrito neste exemplo.

**[0397]** Além disso, embora todas as composições bacterianas tenham sido projetadas para incluir espécies com atividade inibidora de HDAC, composições com menor número de tais cepas ou menos cobertura dos diferentes clusters de HDAC descritos neste documento, (por exemplo, DE984662.1 (DE3) e DE698478.1 (DE10)) resultaram na redução da atividade inibitória de HDAC geral, mesmo depois que as culturas atingiram a saturação. Este resultado destaca a importância de incluir alta representação de cepas inibidoras de HDAC e clusters para permitir a utilização máxima de nutrientes para a produção de SCFAs e inibição de HDAC.

**[0398]** As 36 composições terapêuticas foram projetadas para atividade anti-inflamatória com base na atividade de cepa única no ensaio IEC, mas o efeito dos sobrenadantes também foi avaliado em um organoide do cólon primário descrito acima para explorar a amplitude da atividade anti-inflamatória e avaliar a modulação de vias adicionais relevantes para doença. A análise transcricional de organoides do cólon tratados com TNFa revelou que as citocinas pró-inflamatórias relevantes para a colite ulcerosa (mais altamente expressas em UC em HMP2), tais como CXCL1, CXCL2, CXCL3 e CXCL11, também foram induzidas *in vitro*. Além disso, esses níveis desses transcritos em organoides do cólon tratados com TNFa foram

reduzidos na presença de DEs com os níveis mais altos de inibição de HDAC (FIG 20H, 20I, 20J e 20K), ressaltando a importância de projetar composições para capacidade máxima de inibição de HDAC, conforme descrito neste documento. Curiosamente, DE8, que foi projetado para ser um DE ineficaz, não levou a qualquer diminuição na abundância de transcrições induzidas por TNFa, validando a exclusão de cepas indutoras de IL8 das composições projetadas. Além disso, os genes alvo da via de Wnt, CD44 e LRP6, mostraram ter expressão aumentada em resposta a DEs que ativou mais fortemente o ensaio de células repórter da via de HEK 293 STF Wnt (FIG. 20L, FIG. 20 M e FIG. 20N). Estes dados sugerem que os consórcios de ativação de Wnt podem contribuir para apoiar a homeostase do epitélio intestinal conduzida pela via de Wnt para facilitar o reparo de lesões da mucosa associadas a doenças ou distúrbios divulgados neste documento (por exemplo, IBD).

**[0399]** Além disso, a expressão de genes sob o controle da via de Ahr que está envolvida na proteção da barreira e imunomodulação também foi avaliada no sistema de organoide humano. Como visto, por exemplo, na FIG. 20O, as composições projetadas foram capazes de induzir a expressão do gene Cyp1A1 que codifica uma enzima da superfamília de citocromo P450 na via de AhR. É relevante que a capacidade de induzir Cyp1A1 foi diretamente correlacionada à abundância de indol e descreveu agonista de AhR, nos sobrenadantes e, em contraste com as atividades de Wnt e atividades anti-inflamatórias, não é proporcional à inibição de SCFAs e HDAC, indicando que as composições do projeto afetam com sucesso as respostas do hospedeiro por mais de um mecanismo de ação.

**[0400]** Finalmente, como pode ser visto nas FIGs. 25A a 25C, 26A e 26B, as composições do projeto descritas neste documento tinham propriedades semelhantes (se não melhores) às de um FMT e de fração de esporos (HHSP) de um doador saudável: inibição de HDAC, atividade anti-inflamatória e produção de SCFA. É relevante que a análise da expressão gênica em organoides do cólon mostrou que havia uma sobreposição muito significativa entre a assinatura de expressão gênica de um organoide tratado com TNFalpha e a expressão gênica em biópsias de sujeitos com UC, e que tanto a HHSP quanto os sobrenadantes da

composição podem reverter uma parte significativa dessa assinatura, incluindo vários genes relacionados à inflamação, como Cxcl1, Cxcl2 e ICAM1. Esses resultados indicam que as composições projetadas pelos critérios descritos neste documento repetem muitos recursos de produtos naturais complexos e possuem o potencial de modular a expressão do gene do hospedeiro para restaurar a saúde intestinal.

**[0401]** Estes resultados demonstram que as composições bacterianas podem ser projetadas para ter recursos funcionais específicos. Essa capacidade sugere que, dependendo das vias envolvidas, diferentes composições podem ser projetadas para tratar uma ampla gama de doenças e/ou distúrbios. Os resultados também mostram que, em comparação com produtos muito mais complexos (por exemplo, FMT e composições de preparação de esporos), as composições projetadas divulgadas neste documento são superiores na produção de certos metabólitos que podem ser importantes no tratamento de certas doenças inflamatórias.

**[0402]** Coletivamente, os resultados divulgados neste documento mostram que combinar dados sobre características funcionais de cepas e consórcios bacterianos com dados sobre quais espécies enxertarão em sujeitos humanos (Tabela 5) garante que os consórcios expressarão esses recursos funcionais quando administrados a sujeitos humanos. É relevante que os resultados demonstram ainda que, embora muitas cepas possam ser selecionadas que podem possuir um ou mais dos recursos funcionais desejados divulgados neste documento, tais espécies não necessariamente enxertarão quando administradas a sujeitos humanos. Portanto, tais espécies provavelmente não teriam valor terapêutico, uma vez que não seriam capazes de expressar esses recursos funcionais e ter o efeito desejado quando administradas aos pacientes. As composições bacterianas divulgadas neste documento compreendem uma ou mais bactérias que não apenas permitem que a composição exerça as diferentes características funcionais divulgadas neste documento, mas também são capazes de enxertar quando administradas a sujeitos humanos.

**[0403]** Além disso, a combinação de dados sobre recursos funcionais de cepas com sua associação com remissão clínica em sujeitos humanos (Tabela 3)

garante que os consórcios expressarão recursos funcionais com benefício terapêutico, embora não promovam a não remissão por outros mecanismos.

**[0404]** Os dados ao longo desses consórcios mostram ainda que, por exemplo: 1) consórcios contendo múltiplas (por exemplo, 5, 7, 10, 15, 18) cepas de inibição de HDAC, às vezes provenientes de grupos distintos de HDAC, têm inibição de HDAC mais forte do que aqueles com poucas cepas inibidoras de HDAC (por exemplo, 2, 3, 4, 5), 2) ao contrário de HDAC, os consórcios afetam igualmente certos outros alvos funcionais, mesmo que haja apenas uma ou algumas cepas possuindo essa função, 3) a exclusão de cepas pró-inflamatórias resulta em melhor reparo da barreira epitelial intestinal, 4) essas composições projetadas têm o mesmo efeito que HHSP derivado de doador ou transplante microbiano fecal na expressão do hospedeiro de uma ampla gama de genes associados à colite ulcerosa, 5) composições projetadas para afetar os níveis de várias moléculas distintas (por exemplo, ácidos graxos de cadeia curta e metabólitos de triptofano) podem modular diversas vias relevantes para doenças e têm múltiplos mecanismos de ação (redução da expressão e aumento de citocina pró-inflamatória e aumento da expressão da via de Wnt, ou aumento da expressão da via de AhR, respectivamente).

Exemplo 14: Análise do Efeito das Composições Projetadas nas Respostas Antitumorais a Inibidores de Ponto de Verificação Imunológico

**[0405]** Para avaliar se as composições projetadas divulgadas neste documento também podem ser úteis no tratamento de câncer, um modelo de tumor MC38 foi usado. Em resumo, aproximadamente três semanas antes da inoculação do tumor, a composição DE286037.1 (DE1) foi administrada aos animais. DE1 foi administrado uma vez, na semana 3, a uma dose de $10^7$ por cepa; foram permitidas 3 semanas de colonização antes da inoculação das células tumorais no dia 0. Em seguida, as células de tumor MC38 foram transplantadas para os animais (via administração subcutânea). O anticorpo anti-PD-1 foi administrado aos animais nos dias 7, 10, 13 e 16 após a inoculação do tumor. Os animais de controle receberam um anticorpo de isotipo de controle. O volume tumoral foi medido nos dias 8, 10, 13, 15 e 17 após a inoculação do tumor. No dia 17, os animais foram sacrificados, e as porcentagens de células T CD8 infiltrantes de tumor e células T reguladoras

foram determinadas nos tumores dos animais.

**[0406]** Surpreendentemente, como mostrado na FIG. 27B, os animais que receberam a composição DE1 e o anticorpo anti-PD-1 tiveram maior redução no volume tumoral em comparação com os animais controle. A redução aumentada no volume tumoral era aparente tão cedo quanto 8-10 dias após a inoculação do tumor. O efeito aprimorado no volume tumoral foi associado ao aumento da porcentagem de células T CD8 nos tumores, resultando em aumento na razão células T CD8:Treg (FIG. 27C). Resultados semelhantes foram observados com a composição DE2 em combinação com o anticorpo anti-PD-1 (FIGs. 28A, 28B e 28C).

**[0407]** Em seguida, para confirmar os efeitos antitumorais da composição DE1 descritos acima, um modelo de tumor BP foi usado. O tumor era um melanoma derivado de um camundongo de Braf/pTEN inativado. Em resumo, a composição DE1 foi administrada aos animais e, em seguida, aproximadamente três semanas depois, os animais foram inoculados subcutaneamente com as células tumorais BP. O anticorpo anti-PD-L1 ou um anticorpo de isotipo de controle foi administrado aos animais nos dias 5, 8, 11 e 14 após a inoculação do tumor. O volume tumoral foi medido nos dias 8, 10, 12 e 15 após a inoculação do tumor. No dia 15, os animais foram sacrificados e os tumores analisados.

**[0408]** De acordo com os dados anteriores, os animais que receberam o anticorpo anti-PD-L1 em combinação com a composição DE286037.1 (DE1) tiveram redução aumentada no volume tumoral em comparação com o grupo de controle (FIG. 29B). Novamente, os animais tratados com a combinação de anticorpo anti-PD-L1 e DE1 tinham maior porcentagem de células T CD8 em seus tumores, resultando em aumento na razão células T CD8:Treg (FIGs. 29C e 29D). Os tumores também tiveram maior porcentagem de células T CD4 em comparação com os animais de controle (FIG. 29E).

**[0409]** Coletivamente, os dados acima demonstram que, quando administrada em combinação com um inibidor de ponto de verificação imunológico, a composição DE286037.1 (DE1) pode ser útil no tratamento de certos cânceres. Conforme descrito *acima*, geralmente não se considera que os cânceres estejam associados a respostas pró-inflamatórias, e a imunoterapia contra o câncer

geralmente visa aumentar as respostas pró-inflamatórias do hospedeiro que têm como alvo células cancerosas. Portanto, não era razoavelmente esperado que uma composição bacteriana projetada para ter propriedades anti-inflamatórias (*isto é*, DE1 e DE2) fosse eficaz para aumentar a resposta antitumoral. Os resultados destacam ainda que uma composição bacteriana pode ser projetada para atingir várias vias imunológicas e, assim, tratar uma ampla gama de doenças, incluindo doenças inflamatórias e cânceres.

**Tabela 4** Resumo Fenotípico

| **Espécie** | **Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff)** | **Atribuição de cluster de HDAC** | **Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C** | **Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa)** | **Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio)** |
|---|---|---|---|---|---|
| *Akkermansia muciniphila* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Alistipes finegoldii* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Alistipes onderdonkii* | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Alistipes shahii* | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Anaerotruncus colihominis* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Anaerotruncus colihominis* | 1 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides caccae str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides caccae str.2* | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides caccae str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides dorei* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides eggerthii str.1* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides eggerthii* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *str.2* | | | | | |
| *Bacteroides eggerthii str.3* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides faecis* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides intestinalis* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides nordii* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides ovatus str.1* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides ovatus str.2* | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Bacteroides salyersiae str.1* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides salyersiae str.2* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp 1 1 30* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp 1 1 6* | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp 2 1 22* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp 3 1 23 str.1* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp 3 1 23 str.2* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp 4 1 36* | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp D20 str.1* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides sp D20 str.2* | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *Bacteroides sp D22* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides stercoris* | 1 | 4 | 1 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *Bacteroides uniformis str.1* | 1 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| *Bacteroides uniformis str.2* | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| *Bacteroides vulgatus str.1* | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides vulgatus str.2* | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium adolescentis* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium catenulatum* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Bifidobacterium longum str.1* | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Bifidobacterium longum str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium longum str.4* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Bifidobacterium longum str.5* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium pseudocatenulatum str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium pseudocatenulatum str.2* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Blautia coccoides str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia coccoides* | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *str.2* | | | | | |
| *Blautia glucerasei* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia producta str.1* | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Blautia producta str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Blautia producta str.3* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Blautia producta str.4* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Blautia producta str.5* | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Blautia producta str.6* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia schinkii str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia schinkii str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia sp M25* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia wexlerae* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Butyrivibrio crossotus* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Bactéria Clostridiaceae END 2* | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Clostridiales sp SSC 2* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Clostridium aldenense* | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium asparagiforme* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Clostridium bartlettii str.1* | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium bartlettii str.2* | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium bolteae str.1* | 1 | 3 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Clostridium bolteae str.2* | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *Clostridium bolteae str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium butyricum str.1* | 1 | 4 | 0 | 0 | 1 |
| *Clostridium butyricum str.2* | 1 | 4 | 0 | 1 | 1 |
| *Clostridium butyricum str.2* | 1 | 4 | 0 | 1 | 1 |
| *Clostridium citroniae* | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| *Clostridium clostridioforme* | 1 | 6 | 0 | 0 | 1 |
| *Clostridium disporicum* | 1 | 0 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Clostridium ghonii* | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium glycolicum str.1* | 1 | 2 | 1 | n.d. | n.d. |
| *Clostridium glycolicum str.2* | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium hathewayi str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium hathewayi str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium hathewayi str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium hylemonae* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Clostridium innocuum* | 1 | 6 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Clostridium lactatifermentans* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *Clostridium lavalense* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Clostridium leptum* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium mayombei* | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| *Clostridium nexile* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium oroticum str.1* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium oroticum str.2* | 1 | 0 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Clostridium scindens* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium sp 7 2 43FAA* | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 |
| *Clostridium sp NML 04A032* | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium spiroforme str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium spiroforme str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium sporogenes str.1* | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium sporogenes str.2* | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium straminisolvens* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium subterminale* | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium symbiosum str.1* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Clostridium* | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *symbiosum str.2* | | | | | |
| *Clostridium tertium* | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 |
| *Clostridium tyrobutyricum* | 1 | 6 | 0 | 1 | 1 |
| *Clostridium viride str.1* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Clostridium viride str.2* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Coprobacillus sp D7 str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Coprobacillus sp D7 str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Coprococcus comes* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Coprococcus eutactus str.1* | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Coprococcus eutactus str.2* | 1 | 6 | 0 | 1 | 0 |
| *Coriobacteriaceae sp 7 10 1 b* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Dorea formicigenerans str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Dorea formicigenerans str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Dorea formicigenerans str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Dorea formicigenerans str.4* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Dorea longicatena str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *Dorea longicatena str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Dorea longicatena str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Eggerthella lenta str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Eggerthella lenta str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Eggerthella lenta str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Eggerthella sp 1 3 56FAA* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Erysipelotrichaceae bacterium 3 1 53 str.1* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Erysipelotrichaceae bacterium 3 1 53 str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Erysipelotrichaceae bacterium 5 2 54FAA* | 1 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| *Eubacterium contortum str.1* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Eubacterium contortum str.2* | 1 | 0 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Eubacterium desmolans* | 1 | 5 | 0 | 1 | 0 |
| *Eubacterium dolichum* | 1 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| *Eubacterium hallii* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Eubacterium limosum* | 1 | 6 | 0 | 1 | 0 |
| *Eubacterium rectale str.1* | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 |
| *Eubacterium rectale str.2* | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *Eubacterium siraeum* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Eubacterium sp WAL 14571 str.1* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Eubacterium sp WAL 14571 str.1* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Eubacterium tenue* | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 |
| *Eubacterium ventriosum* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.1* | 1 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.2* | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.3* | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.4* | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.5* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.6* | 1 | 6 | 0 | 0 | 1 |
| *Faecalibacterium prausnitzii str.7* | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Flavonifractor plautii str.1* | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| *Flavonifractor plautii str.2* | 1 | 4 | 1 | n.d. | n.d. |
| *Gemmiger formicilis str.1* | 1 | 6 | 0 | 1 | 0 |
| *Gemmiger formicilis* | 1 | 6 | 0 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *str.2* | | | | | |
| *Gemmiger formicilis str.3* | 1 | 6 | 0 | 1 | 0 |
| *Hydrogenoanaerobacterium saccharovorans* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospira pectinoschiza* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium 1 4 56FAA* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium 2 1 58FAA* | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium 3 1 57FAA str.1* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium 3 1 57FAA str.2* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium 5 1 57FAA str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Lachnospiraceae bacterium 5 1 57FAA str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Lachnospiraceae bacterium 5 1 57FAA str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium 5 1 57FAA* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *str.4* | | | | | |
| *Lachnospiraceae bacterium 5 1 57FAA str.5* | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Lachnospiraceae bacterium 6 1 63FAA* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium táxon oral F15 str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospiraceae bacterium táxon oral F15 str.2* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Lachnospiraceae sp 10972* | 1 | 0 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Lachnospiraceae sp 11041* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Lactobacillus gasseri* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Lactonifactor longoviformis* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Odoribacter splanchnicus* | 1 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| *Oscillibacter valericigenes* | 1 | 4 | 0 | 1 | 0 |
| *Parabacteroides distasonis* | 1 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| *Roseburia faecalis* | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Roseburia hominis str.1* | 1 | 5 | 0 | 1 | 1 |
| *Roseburia hominis* | 1 | 6 | 0 | 1 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *str.2* | | | | | |
| *Roseburia intestinalis str.1* | 1 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| *Roseburia intestinalis str.2* | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 |
| *Roseburia intestinalis str.3* | 1 | 5 | 0 | 1 | 1 |
| *Roseburia intestinalis str.4* | 1 | 5 | 0 | 1 | 0 |
| *Roseburia inulinivorans* | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Ruminococcaceae bacterium D16* | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus albus* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus bromii str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus bromii str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus bromii str.3* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus Gnavus* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus hansenii* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus lactaris str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus lactaris str.2* | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Ruminococcus* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| Espécie | Inibição de HDAC em qualquer fonte C (25/18%cutoff) | Atribuição de cluster de HDAC | Metabólito de Trp positivo em qualquer fonte C | Anti-inflamatório em qualquer fonte C (> 50% de redução de IL8 em comparação com o controle de TNFa) | Pró-inflamatório em qualquer fonte C (> 25% de aumento em IL8 em relação ao controle médio) |
|---|---|---|---|---|---|
| *obeum str.1* | | | | | |
| *Ruminococcus obeum str.2* | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| *Ruminococcus obeum str.3* | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| *Ruminococcus obeum str.4* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus obeum str.5* | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| *Ruminococcus sp 5 1 39BFAA* | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| *Ruminococcus sp K-1* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus torques str.1* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Ruminococcus torques str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Subdoligranulum variabile* | 1 | 6 | 0 | 1 | 0 |
| *Turicibacter sanguinis str.1* | 0 | 1 | 0 | n.d. | n.d. |
| *Turicibacter sanguinis str.2* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

**Tabela 5**. Resumo de Enxerto

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Acetivibrio não classificado | 258 | LTE |

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Anaerostipes hadrus | 363 | LTE |
| Anaerostipes não classificado | 229 | LTE |
| Anaerotruncus colihominis cepa 1 | 230 | TE |
| Anaerotruncus colihominis cepa 2 | 232 | TE |
| Anaerotruncus não classificado | 231 | TE |
| Blautia hydrogenotrophica | 238 | LTE |
| Blautia obeum cepa 1 | 389 | LTE |
| Blautia obeum cepa 2 | 390 | LTE |
| Blautia producta | 239 | TE |
| Blautia não classificado cepa 1 | 233 | LTE |
| Blautia não classificado cepa 2 | 236 | LTE |
| Blautia não classificado cepa 3 | 391 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 1 | 240 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 2 | 241 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 3 | 242 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 4 | 243 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 5 | 244 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 6 | 245 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 7 | 246 | LTE |
| Blautia wexlerae cepa 8 | 247 | LTE |
| Butyricoccus não classificado cepa 1 | 251 | LTE |
| Butyricoccus não classificado cepa 2 | 259 | LTE |
| Butyricoccus não classificado cepa 3 | 313 | TE |
| Clostridiales não classificado cepa 1 | 234 | LTE |
| Clostridiales não classificado cepa 2 | 235 | LTE |
| Clostridiales não classificado cepa 3 | 302 | TE |
| Clostridium aldenense | 263 | TE |
| Clostridium bolteae cepa 1 | 270 | TE |
| Clostridium bolteae cepa 2 | 272 | TE |
| Clostridium bolteae cepa 3 | 273 | TE |

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Clostridium bolteae cepa 4 | 274 | TE |
| Clostridium citroniae | 271 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 1 | 278 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 2 | 279 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 3 | 280 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 4 | 281 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 5 | 282 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 6 | 308 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 7 | 310 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 8 | 311 | TE |
| Clostridium innocuum cepa 9 | 312 | TE |
| Clostridium lavalense cepa 1 | 264 | TE |
| Clostridium lavalense cepa 2 | 283 | TE |
| Clostridium leptum cepa 1 | 284 | LTE |
| Clostridium leptum cepa 2 | 285 | LTE |
| Clostridium paraputrificum | 286 | TE |
| Clostridium perfringens | 287 | TE |
| Clostridium saudiense | 275 | LTE |
| Clostridium scindens | 362 | TE |
| Clostridium subterminale | 290 | TE |
| Clostridium symbiosum | 291 | TE |
| Clostridium não classificado | 237 | LTE |
| Coprobacillus não classificado | 250 | LTE |
| Coprococcus comes | 293 | LTE |
| Coprococcus não classificado | 292 | LTE |
| Dielma fastidiosa | 248 | LTE |
| Dorea formicigenerans cepa 1 | 294 | LTE |
| Dorea formicigenerans cepa 2 | 295 | LTE |
| Dorea formicigenerans cepa 3 | 296 | LTE |
| Dorea formicigenerans cepa 4 | 297 | LTE |

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Dorea formicigenerans cepa 5 | 298 | LTE |
| Dorea formicigenerans cepa 6 | 299 | LTE |
| Dorea longicatena cepa 1 | 300 | LTE |
| Dorea longicatena cepa 2 | 301 | LTE |
| Eisenbergiella tayi cepa 1 | 359 | LTE |
| Eisenbergiella tayi cepa 2 | 360 | LTE |
| Eisenbergiella tayi cepa 3 | 361 | LTE |
| Erysipelatoclostridium ramosum | 288 | TE |
| Eubacterium eligens cepa 1 | 318 | LTE |
| Eubacterium eligens cepa 2 | 319 | LTE |
| Eubacterium eligens cepa 3 | 320 | LTE |
| Eubacterium eligens cepa 4 | 321 | LTE |
| Eubacterium eligens cepa 5 | 322 | LTE |
| Eubacterium hallii | 323 | LTE |
| Eubacterium rectale cepa 1 | 325 | LTE |
| Eubacterium rectale cepa 2 | 326 | LTE |
| Eubacterium rectale cepa 3 | 327 | LTE |
| Eubacterium rectale cepa 4 | 328 | LTE |
| Eubacterium rectale cepa 5 | 329 | LTE |
| Eubacterium siraeum cepa 1 | 330 | LTE |
| Eubacterium siraeum cepa 2 | 331 | LTE |
| Eubacterium siraeum cepa 3 | 332 | LTE |
| Eubacterium siraeum cepa 4 | 333 | LTE |
| Eubacterium ventriosum | 339 | LTE |
| Faecalibacterium prausnitzii cepa 1 | 340 | LTE |
| Faecalibacterium prausnitzii cepa 2 | 341 | LTE |
| Faecalibacterium prausnitzii cepa 3 | 342 | LTE |
| Faecalibacterium prausnitzii cepa 4 | 343 | LTE |
| Faecalibacterium prausnitzii cepa 5 | 344 | LTE |
| Faecalibacterium prausnitzii cepa 6 | 345 | LTE |

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Faecalicatena contorta cepa 1 | 314 | TE |
| Faecalicatena contorta cepa 2 | 315 | TE |
| Faecalicatena contorta cepa 3 | 316 | TE |
| Faecalicatena contorta cepa 4 | 317 | TE |
| Firmicutes não classificado cepa 1 | 303 | TE |
| Firmicutes não classificado cepa 2 | 304 | TE |
| Firmicutes não classificado cepa 3 | 305 | TE |
| Firmicutes não classificado cepa 4 | 306 | TE |
| Firmicutes não classificado cepa 5 | 307 | TE |
| Firmicutes não classificado cepa 6 | 309 | TE |
| Flavonifractor plautii cepa 1 | 348 | LTE |
| Flavonifractor plautii cepa 2 | 364 | LTE |
| Fusicatenibacter saccharivorans | 349 | LTE |
| Gemmiger formicilis | 350 | LTE |
| Holdemania filiformis | 352 | LTE |
| Hungatella effluvii cepa 1 | 276 | TE |
| Hungatella effluvii cepa 2 | 277 | TE |
| Intestinibacter bartlettii cepa 1 | 265 | LTE |
| Intestinibacter bartlettii cepa 2 | 266 | LTE |
| Intestinibacter bartlettii cepa 3 | 267 | LTE |
| Intestinibacter bartlettii cepa 4 | 268 | LTE |
| Intestinibacter bartlettii cepa 5 | 269 | LTE |
| Intestinimonas butyriciproducens | 353 | LTE |
| Lachnoclostridium pacaense | 249 | TE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 1 | 228 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 2 | 252 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 3 | 253 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 4 | 254 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 5 | 255 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 6 | 256 | LTE |

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Lachnospiraceae não classificado cepa 7 | 260 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 8 | 289 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 9 | 354 | LTE |
| Lachnospiraceae não classificado cepa 10 | 381 | LTE |
| Lactobacillus rogosae | 355 | LTE |
| Lactonifator não classificado | 366 | TE |
| Longicatena caecimuris cepa 1 | 334 | LTE |
| Longicatena caecimuris cepa 2 | 335 | LTE |
| Longicatena caecimuris cepa 3 | 336 | LTE |
| Longicatena caecimuris cepa 4 | 337 | LTE |
| Longicatena caecimuris cepa 5 | 338 | LTE |
| Oscillibacter não classificado | 367 | LTE |
| Robinsoniella não classificada | 257 | LTE |
| Roseburia faecis | 368 | LTE |
| Roseburia hominis cepa 1 | 369 | LTE |
| Roseburia hominis cepa 2 | 370 | LTE |
| Roseburia hominis cepa 3 | 371 | LTE |
| Roseburia hominis cepa 4 | 372 | LTE |
| Roseburia inulinivorans | 374 | LTE |
| Roseburia não classificado cepa 1 | 324 | LTE |
| Roseburia não classificado cepa 2 | 373 | LTE |
| Roseburia não classificado cepa 3 | 375 | LTE |
| Ruminococcaceae não classificado cepa 1 | 261 | LTE |
| Ruminococcaceae não classificado cepa 2 | 262 | TE |
| Ruminococcaceae não classificado cepa 3 | 346 | LTE |
| Ruminococcaceae não classificado cepa 4 | 347 | LTE |
| Ruminococcaceae não classificado cepa 5 | 376 | LTE |
| Ruminococcus bromii | 383 | LTE |
| Ruminococcus gnavus cepa 1 | 357 | LTE |
| Ruminococcus gnavus cepa 2 | 384 | LTE |

| Espécie | SEQ ID NO para a sequência de 16S | Enxertador de longo prazo (LTE) ou Enxertador Transitório (TE) |
|---|---|---|
| Ruminococcus gnavus cepa 3 | 385 | LTE |
| Ruminococcus gnavus cepa 4 | 386 | LTE |
| Ruminococcus gnavus cepa 5 | 387 | LTE |
| Ruminococcus gnavus cepa 6 | 388 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 1 | 356 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 2 | 358 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 3 | 365 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 4 | 392 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 5 | 393 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 6 | 394 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 7 | 395 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 8 | 396 | LTE |
| Ruminococcus torques cepa 9 | 397 | LTE |
| Ruminococcus não classificado cepa 1 | 377 | TE |
| Ruminococcus não classificado cepa 2 | 378 | TE |
| Ruminococcus não classificado cepa 3 | 379 | TE |
| Ruminococcus não classificado cepa 4 | 380 | TE |
| Ruminococcus não classificado cepa 5 | 382 | LTE |
| Ruthenibacterium lactatiformans | 398 | TE |
| Subdoligranulum não classificado | 351 | LTE |

**Tabela 6**. Propriedades das Composições Bacterianas Projetadas (DE1 e DE3-DE12)

| DE | DE286037.1 (DE1) | DE984662.1 (DE3) | DE002165.1 (DE4) | DE464167.1 (DE5) | DE522292.1 (DE6) | DE247030.1 (DE7) | DE349441.1 (DE8) | DE698478.1 (DE10) | DE559846.1 (DE11) | DE405816.1 (DE12) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pseudônimo | de1 | de1 core | de1 core plus pstrep | de1 pheno core | de 287 3mer1 | de 287 3mer2 | de 287 6mer | new core | de1 modNewCore | de 287 3mer1 modNewCore |
| HDAC cluster 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| HDAC cluster 1 | 4 | 0 | 1 | 0 | 3 | 4 | 2 | 2 | 4 | 4 |
| HDAC cluster 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HDAC cluster 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| HDAC cluster 4 | 5 | 2 | 2 | 3 | 8 | 5 | 7 | 1 | 5 | 8 |
| HDAC cluster 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HDAC cluster 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| Inibição de HDAC | 11 | 3 | 4 | 4 | 10 | 9 | 11 | 3 | 10 | 11 |
| Ácido propanoico | 5 | 0 | 1 | 3 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| Ácido butanoico | 5 | 1 | 2 | 2 | 6 | 4 | 6 | 1 | 4 | 6 |
| Ácido pentanoico | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 |
| Ácido hexanoico | 2 | 1 | 1 | 0 | 3 | 2 | 2 | 0 | 1 | 2 |
| Indol | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 |
| 3-metil indol | 2 | 0 | 1 | 1 | 4 | 3 | 5 | 1 | 2 | 4 |
| Ácido 3-indol-acrílico | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BSH gCA | 13 | 2 | 3 | 3 | 11 | 11 | 11 | 4 | 12 | 13 |
| BSH tCA | 11 | 1 | 1 | 2 | 10 | 10 | 10 | 3 | 9 | 11 |
| BSH gCDCA | 9 | 1 | 1 | 2 | 8 | 8 | 9 | 3 | 7 | 9 |
| BSH tCDCA | 10 | 1 | 1 | 2 | 9 | 9 | 9 | 3 | 8 | 10 |
| 7aD CA | 6 | 2 | 2 | 1 | 5 | 5 | 4 | 1 | 4 | 4 |
| 7aD CDCA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| 7bHSDH UDCA | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Catalase | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| a-L-Fucosidase | 3 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| IL8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Inflamatório | | | | | | | | | | |
| LTE | 1 | 0 | 0 | 3 | 1 | 4 | 4 | 1 | 2 | 2 |
| TE | 7 | 2 | 2 | 1 | 8 | 5 | 7 | 3 | 10 | 11 |
| Associado a Remissão | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 | 2 |
| Associado a Não Remissão | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 |

**Tabela 7**. Propriedades das Composições Bacterianas Projetadas (DE13-DE19 e DE21-DE23)

| DE | DE056280.1 (DE13) | DE390874.1 (DE14) | DE299561.1 (DE15) | DE504874.1 (DE16) | DE124702.1 (DE18) | DE2117104.1 (DE19) | DE762708.1 (DE21) | DE787951.1 (DE22) | DE291114.1 (DE23) | DE608959.1 (DE17) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pseudônimo | de 287 3mer2 modNewCore | de 287 6mer modNewCore | t1 eff s287 isolate | t1 eff s287 isolate plusCore | t1 eff s287 isolate plusCore allTryp | t1 eff s287 isolate plusCore maxHDAC0 | max spp eff | max eff s287 isolate | max eff s287 isolate plusCore | t1 eff s287 isolate plusCore sppCluster1 |
| HDAC cluster 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 4 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| HDAC cluster 1 | 4 | 3 | 2 | 4 | 5 | 4 | 5 | 3 | 5 | 5 |
| HDAC cluster 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HDAC cluster 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| HDAC cluster 4 | 5 | 8 | 2 | 3 | 6 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 |
| HDAC cluster 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| HDAC cluster 6 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | 3 | 3 | 2 |
| Inibição de HDAC | 10 | 13 | 4 | 7 | 11 | 9 | 10 | 8 | 11 | 10 |
| Ácido propanoico | 3 | 3 | 1 | 2 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 | 4 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ácido butanoico | 4 | 7 | 3 | 4 | 6 | 4 | 6 | 5 | 6 | 5 |
| Ácido pentanoico | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Ácido hexanoico | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Indol | 3 | 3 | 0 | 2 | 4 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| 3-metil indol | 2 | 5 | 3 | 4 | 5 | 4 | 6 | 5 | 6 | 5 |
| Ácido 3-indol-acrílico | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BSH gCA | 12 | 14 | 5 | 9 | 14 | 11 | 14 | 10 | 14 | 13 |
| BSH tCA | 10 | 12 | 5 | 8 | 12 | 8 | 12 | 10 | 13 | 12 |
| BSH gCDCA | 8 | 11 | 5 | 8 | 12 | 8 | 11 | 9 | 12 | 10 |
| BSH tCDCA | 9 | 11 | 5 | 8 | 12 | 8 | 12 | 10 | 13 | 11 |
| 7aD CA | 4 | 4 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| 7aD CDCA | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 7bHSDH UDCA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Catalase | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| a-L-Fucosidase | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| IL8 Inflamatório | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LTE | 4 | 4 | 4 | 5 | 6 | 5 | 7 | 7 | 8 | 8 |
| TE | 8 | 10 | 2 | 5 | 9 | 5 | 7 | 3 | 6 | 5 |
| Associado a Remissão | 0 | 2 | 4 | 4 | 4 | 4 | 7 | 5 | 5 | 4 |
| Associado a Não Remissão | 2 | 2 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |

**Tabela 8**. Propriedades das Composições Bacterianas Projetadas (DE20, DE24-DE30, DE32 e DE33)

| DE | DE31366 9.1 (DE20) | DE070 875.1 (DE24) | DE343 482.1 (DE26) | DE616 787.1 (DE25) | DE068 851.1 (DE30) | DE055 548.1 (DE28) | DE033 849.1 (DE27) | DE8651 06.1 (DE29) | DE779 249.1 (DE32) | DE4335 98.1 (DE33) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pseudônimo | t1 eff s287 | 15mer wRedu | 15mer wRedu | 15mer wRedu | 15mer wRedu | 15mer wRedu | 15mer wRedu | 15mer wRedun | 18mer wRedu | 18mer wRedun |

| | isolate plusCore maxHDA CDiv | ndancy distant | ndancy max3veg maxSpore | ndancy max3veg maxPropionate | ndancy maxT1 Eff | ndancy max5veg maxSkatol | ndancy max3veg maxT1 Eff | dancy max5veg maxT1Eff | ndancy maxT1 Eff | dnancy max5veg maxT1Eff |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| HDAC cluster 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| HDAC cluster 1 | 4 | 3 | 2 | 3 | 5 | 4 | 2 | 4 | 5 | 5 |
| HDAC cluster 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| HDAC cluster 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| HDAC cluster 4 | 3 | 6 | 7 | 6 | 4 | 6 | 6 | 5 | 6 | 7 |
| HDAC cluster 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HDAC cluster 6 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Inibição de HDAC | 12 | 12 | 14 | 13 | 11 | 13 | 14 | 12 | 13 | 14 |
| Ácido propanoico | 6 | 7 | 5 | 7 | 4 | 5 | 6 | 4 | 6 | 5 |
| Ácido butanoico | 6 | 7 | 8 | 8 | 7 | 9 | 8 | 7 | 9 | 8 |
| Ácido pentanoico | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Ácido hexanoico | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Indol | 2 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 5 |
| 3-metil indol | 6 | 5 | 7 | 6 | 6 | 8 | 6 | 7 | 8 | 6 |
| Ácido 3-indol-acrílico | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BSH gCA | 14 | 13 | 13 | 13 | 13 | 12 | 13 | 13 | 16 | 16 |
| BSH tCA | 13 | 9 | 10 | 10 | 11 | 9 | 10 | 11 | 13 | 12 |
| BSH gCDCA | 12 | 9 | 10 | 10 | 11 | 9 | 10 | 11 | 13 | 12 |
| BSH tCDCA | 13 | 9 | 10 | 10 | 11 | 9 | 10 | 11 | 13 | 12 |
| 7aD CA | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7aD CDCA | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 7bHSDH UDCA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Catalase | 2 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| a-L-Fucosidase | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| IL8 Inflamatório | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LTE | 7 | 9 | 7 | 7 | 9 | 8 | 8 | 8 | 12 | 10 |
| TE | 7 | 6 | 8 | 8 | 6 | 7 | 7 | 7 | 6 | 8 |
| Associado a Remissão | 5 | 4 | 5 | 4 | 8 | 5 | 5 | 7 | 9 | 7 |
| Associado a Não Remissão | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**Tabela 9**. Propriedades das Composições Bacterianas Projetadas (DE2, DE9, DE31 e DE34-DE38)

| DE | DE502105.1 (DE31) | DE266386.1 (DE34) | DE278442.1 (DE35) | DE821956.1 (DE9) | DE533175.1 (DE38) | DE346897.1 (DE36) | DE935045.1 (DE37) | DE924221.1 (DE2) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pseudônimo | 18mer wRedundancy distant | common 20mer | mega 24mer | lousy de | lousier de | 23mer swaps | 18mer swaps | de2 |
| HDAC cluster 0 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| HDAC cluster 1 | 6 | 4 | 9 | 3 | 3 | 7 | 4 | 2 |
| HDAC cluster 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| HDAC cluster 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| HDAC cluster 4 | 6 | 6 | 8 | 1 | 1 | 8 | 7 | 3 |
| HDAC cluster 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| HDAC cluster 6 | 2 | 3 | 3 | 0 | 1 | 4 | 4 | 1 |
| Inibição de HDAC | 14 | 14 | 17 | 3 | 5 | 18 | 15 | 12 |
| Ácido propanoico | 7 | 6 | 7 | 0 | 0 | 7 | 6 | 6 |
| Ácido butanoico | 9 | 8 | 11 | 0 | 0 | 12 | 9 | 3 |
| Ácido pentanoico | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ácido hexanoico | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| Indol | 5 | 4 | 5 | 0 | 0 | 5 | 5 | 9 |
| 3-metil indol | 8 | 6 | 10 | 0 | 0 | 10 | 6 | 1 |
| Ácido 3-indol-acrílico | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| BSH gCA | 15 | 15 | 21 | 1 | 1 | 20 | 16 | 7 |
| BSH tCA | 12 | 12 | 17 | 1 | 1 | 14 | 10 | 5 |
| BSH gCDCA | 12 | 12 | 17 | 1 | 1 | 15 | 11 | 6 |
| BSH tCDCA | 12 | 12 | 17 | 1 | 1 | 15 | 11 | 6 |
| 7aD CA | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 7aD CDCA | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 7bHSDH UDCA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Catalase | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 |
| a-L-Fucosidase | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| IL8 Inflamatório | 0 | 0 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| LTE | 9 | 10 | 14 | 1 | 1 | 14 | 11 | 2 |
| TE | 9 | 7 | 10 | 1 | 2 | 9 | 7 | 2 |
| Associado a Remissão | 6 | 7 | 9 | 1 | 1 | 9 | 7 | 0 |
| Associado a Não Remissão | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

**[0410]** Este pedido PCT reivindica o benefício de prioridade do Pedido Provisório US Nº 62/676.236, depositado em 24 de maio de 2018, que é incorporado neste documento por referência na sua totalidade.

## REIVINDICAÇÕES

1. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma primeira população bacteriana purificada e uma segunda população bacteriana purificada,

em que a primeira população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 210 ou SEQ ID NO: 106, e

em que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular um metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5) e (xxii) qualquer

combinação destes.

2. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma primeira população bacteriana purificada e uma segunda população bacteriana purificada,

em que a primeira população bacteriana compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178 ou SEQ ID NO: 137, e

em que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular um metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR4 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2) e (xxii) qualquer combinação destes.

3. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma primeira população bacteriana purificada e uma segunda população bacteriana purificada,

em que a primeira população bacteriana compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111 ou SEQ ID NO: 103, e

em que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular o metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de produzir um esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5) e (xxii) qualquer combinação destes.

4. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada** pelo fato de que os um ou mais recursos são selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de

HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) qualquer combinação destes.

5. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende um enxertador de longo prazo e/ou um enxertador transitório.

6. Composição, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete ou mais enxertadores de longo prazo.

7. Composição, de acordo com a reivindicação 5 ou 6, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende dois, três ou mais enxertadores transitórios.

8. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7, **caracterizada** pelo fato de que uma combinação da primeira população bacteriana purificada e a segunda população bacteriana purificada compreende três ou mais enxertadores transitórios e/ou sete ou mais enxertadores de longo prazo.

9. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um metabólito de triptofano.

10. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido biliar secundário.

11. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de ter atividade anti-inflamatória.

12. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que não são capazes de induzir atividade pró-inflamatória.

13. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada

compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia curta.

14. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia médica.

15. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **caracterizada** pelo fato de que a segunda população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de inibir atividade de HDAC.

16. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma população bacteriana purificada, em que a população bacteriana purificada compreende dois ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular um metabolismo de uma poliamina do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5) e (xxii) qualquer combinação destes.

17. Composição, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizada** pelo fato de que os dois ou mais recursos são selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar

secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) qualquer combinação destes.

18. Composição, de acordo com a reivindicação 16 ou 17, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida na SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 210 ou SEQ ID NO: 106.

19. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 18, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias com uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida em SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO:

133, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181 ou SEQ ID NO: 213.

20. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma população bacteriana purificada, que compreende duas ou mais bactérias, em que as duas ou mais bactérias compreendem um enxertador de longo prazo e um enxertador transitório.

21. Composição, de acordo coma a reivindicação 20, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende ainda uma ou mais bactérias com um ou mais recursos selecionados do grupo que consiste em: (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito, (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar a integridade epitelial conforme determinada por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, (xi) capaz de expressar atividade de catalase, (xii) capaz de ter atividade de alfa-fucosidase, (xiii) capaz de induzir a ativação de Wnt, (xiv) capaz de produzir uma vitamina B, (xv) capaz de modular o metabolismo de endocanabinoide do hospedeiro, (xvi) capaz de produzir uma poliamina e/ou de modular o metabolismo de poliaminas do hospedeiro, (xvii) capaz de reduzir os níveis fecais de esfingolipídeo, (xviii) capaz de modular a produção de quinurenina pelo hospedeiro, (xix) capaz de reduzir o nível de calprotectina fecal, (xx) incapaz de ativar uma via de receptor do tipo toll (por exemplo, TLR2 ou TLR5), (xxi) capaz de ativar uma via de receptor do tipo toll

(por exemplo, TLR2 ou TLR5) e (xxii) qualquer combinação destes.

22. Composição, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizada** pelo fato de que os um ou mais recursos são selecionados dentre (i) capaz de enxertar quando administrada a um sujeito; (ii) capaz de ter atividade anti-inflamatória, (iii) incapaz de induzir atividade pró-inflamatória, (iv) capaz de produzir um ácido biliar secundário, (v) capaz de produzir um metabólito de triptofano, (vi) capaz de restaurar integridade epitelial conforme determinado por um ensaio de integridade de barreira de monocamada de células epiteliais primárias, (vii) capaz de ser associada à remissão de uma doença inflamatória intestinal, (viii) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ix) capaz de inibir uma atividade de HDAC, (x) capaz de produzir um ácido graxo de cadeia média, ou (xi) qualquer combinação destes.

23. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 22, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete ou mais enxertadores de longo prazo.

24. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 23, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende dois, três, quatro, cinco, seis, sete ou mais enxertos transitórios.

25. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 24, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende três ou mais enxertadores transitórios e/ou sete ou mais enxertadores de longo prazo.

26. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 25, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um metabólito de triptofano.

27. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 26, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido biliar secundário.

28. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 27, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de ter atividade anti-inflamatória.

29. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 28, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende

uma ou mais bactérias que não são capazes de induzir atividade pró-inflamatória.

30. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 29, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia curta.

31. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 30, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de produzir um ácido graxo de cadeia médica.

32. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 31, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende uma ou mais bactérias que são capazes de inibir atividade de HDAC.

33 Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19 e 21 a 32, **caracterizada** pelo fato de que o metabólito de triptofano compreende indol, 3-metil indol, indol-acrilato ou qualquer combinação destes.

34. Composição, de acordo com a reivindicação 33, **caracterizada** pelo fato de que o metabólito de triptofano é indol.

35. Composição, de acordo com a reivindicação 33 ou 34, **caracterizada** pelo fato de que o metabólito de triptofano é 3-metil indol.

36. Composição, de acordo com as reivindicações 1 a 19 e 21 a 35, **caracterizada** pelo fato de que a bactéria capaz de produzir um ácido biliar secundário tem atividade de 7α-desidroxilase.

37. Composição, de acordo com as reivindicações 1 a 19 e 21 a 36, **caracterizada** pelo fato de que a bactéria capaz de produzir um ácido biliar secundário tem atividade de hidrolase de sal biliar (BSH).

38. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizada** pelo fato de que a primeira população bacteriana purificada e/ou a segunda população bacteriana purificada não compreende uma bactéria com atividade de 7β-hidroxiesteroide desidrogenase (7β-HSDH).

39. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 16 a 38, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada não compreende uma bactéria com atividade de 7β-hidroxiesteroide desidrogenase (7β-HSDH).

40. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 19 e 21 a 39, **caracterizada** pelo fato de que o ácido biliar secundário compreende ácido desoxicólico (DCA), ácido 3α 12-oxo-desoxicólico, ácido 3β 12α-desoxicólico (ácido 3-isodesoxicólico), ácido 7α 3-oxo-quenodesoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxo LCA, ou qualquer combinação destes.

41. Composição, de acordo com qualquer uma das combinações 1 a 19 e 21 a 40, **caracterizada** pelo fato de que as bactérias capazes de possuir atividade anti-inflamatória compreendem (i) bactérias capazes de produzir um ácido graxo de cadeia curta, (ii) bactérias capazes de inibir a atividade de histona desacetilase (HDAC), (iii) bactérias capazes de inibir a secreção de IL-8 induzida por TNF-α em células epiteliais in vitro, ou (iv) qualquer combinação destas.

42. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19 e 21 a 41, **caracterizada** pelo fato de que uma ou mais bactérias não capazes de induzir atividade pró-inflamatória compreende (i) bactérias não capazes de induzir a secreção de IL-8 em células epiteliais in vitro e/ou (ii) bactérias incapazes de ativar o receptor tipo Toll 4 (TLR4) e/ou o receptor tipo Toll 5 (TLR5) *in vitro*.

43. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19 e 21 a 42, **caracterizada** pelo fato de que o ácido graxo de cadeia curta é selecionado de formiato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato ou qualquer combinação destes.

44. Composição, de acordo com a reivindicação 43, **caracterizada** pelo fato de que o ácido graxo de cadeia curta é propionato.

45. Composição, de acordo com a reivindicação 43 ou 44, **caracterizada** pelo fato de que o ácido graxo de cadeia curta é butirato.

46. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19 e 21 a 45, **caracterizada** pelo fato de que o ácido graxo de cadeia média compreende hexanoato, octanoato, decanoato, dodecanoato ou qualquer combinação destes.

47. Composição, de acordo com a reivindicação 46, **caracterizada** pelo fato de que o ácido graxo de cadeia média é hexanoato ou pentanoato.

48. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 15 e 20 a 47, **caracterizada** pelo fato de que o enxertador de longo prazo tem uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos

98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA de um enxertador de longo prazo fornecido na Tabela 5.

49. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 15 e 20 a 48, **caracterizada** pelo fato de que o enxertador de longo prazo tem uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de rDNA 16S estabelecida na SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181 ou SEQ ID NO: 189.

50. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 15 e 20 a 49, **caracterizada** pelo fato de que o enxertador transiente tem uma sequência de 16S rDNA que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA de um enxertador transiente fornecido na Tabela 5.

51. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 15 e 20 a 50, **caracterizada** pelo fato de que o enxertador transiente tem uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de rDNA 16S estabelecida na SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132 ou SEQ ID NO: 175.

52. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma população bacteriana purificada, compreendendo uma ou mais bactérias com uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5%, ou 100% idêntica a uma sequência de rDNA 16S estabelecida em SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ

ID NO: 104, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 210 ou SEQ ID NO: 106.

53. Composição, de acordo com a reivindicação 52, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende adicionalmente uma ou mais bactérias com uma sequência de rDNA 16S que é pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, em pelo menos 99,5% ou 100% idêntica a uma sequência de 16S rDNA estabelecida na SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181 ou SEQ ID NO: 213.

54. Composição **caracterizada** pelo fato de que compreende uma população bacteriana purificada compreendendo sequências de 16S rDNA que são pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idênticas a uma sequência de 16S rDNA

selecionada do grupo consistindo em:

(1) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 187;

(2) SEQ ID NO: 186;

(3) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175;

(4) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104;

(5) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175;

(6) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116 or SEQ ID NO: 104;

(7) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175;

(8) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 104;

(9) SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 175;

(10) SEQ ID NO: 159; SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211;

(11) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 210;

(12) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175;

(13) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159;

(14) SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159;

(15) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 175;

(16) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 175;

(17) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 175;

(18) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175;

(19) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175;

(20) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175;

(21) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 175;

(22) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 159;

(23) SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 159;

(24) SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 106; e

(25) qualquer combinação destes.

55. Composição, de acordo com a reivindicação 54, **caracterizada** pelo fato de que a população bacteriana purificada compreende adicionalmente compreende uma população bacteriana purificada compreendendo sequências de 16S rDNA que são pelo menos 97%, pelo menos 97,5%, pelo menos 98%, pelo menos 98,5%, pelo menos 99%, pelo menos 99,5% ou 100% idênticas a uma sequência de 16S rDNA selecionada do grupo consistindo em:

(1) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO:

201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123;

(2) SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 103;

(3) SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 205;

(4) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 117;

(5) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 134;

(6) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 182;

(7) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 134;

(8) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123;

(9) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 134;

(10) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 182

(11) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 118,

SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 134;

(12) SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(13) SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(14) SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(15) SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(16) SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(17) SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(18) SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(19) SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(20) SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(21) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ

ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163

(22) SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 134;

(23) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 134;

(24) SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135;

(25) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 163;

(26) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182;

(27) SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182;

(28) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135;

(29) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135;

(30) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO:

192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163;

(31) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135;

(32) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 134;

(33) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181;

(34) SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181;

(35) SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID Nº: 181; e

(36) qualquer combinação destes.

56. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 55, **caracterizada** pelo fato de que compreende ainda um ou mais polímeros entéricos.

57. Formulação farmacêutica **caracterizada** pelo fato de que compreende a composição de qualquer uma das reivindicações 1 a 56 e um excipiente farmaceuticamente aceitável.

58. Formulação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 57, **caracterizada** pelo fato de que o excipiente é glicerol.

59. Formulação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 57, **caracterizada** pelo fato de que a composição é liofilizada.

60. Formulação farmacêutica, de acordo com a reivindicação 57, **caracterizada** pelo fato de que a composição é formulada para distribuição oral.

61. Método de tratamento de uma doença inflamatória em um sujeito em necessidade deste, **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60.

62. Método, de acordo com a reivindicação 61, **caracterizado** pelo fato de que a administração da quantidade eficaz da composição melhora um ou mais sinais ou sintomas da doença inflamatória ou mantém uma remissão da doença inflamatória.

63. Método, de acordo com a reivindicação 61 ou 62, **caracterizado** pelo fato de que a doença inflamatória compreende uma doença inflamatória intestinal.

64. Método, de acordo com a reivindicação 63, **caracterizado** pelo fato de que a doença inflamatória intestinal compreende doença de Crohn, doenças gastrointestinais mediadas por autoimunidade, inflamação gastrointestinal ou colite, como colite ulcerativa, colite ulcerosa, colite microscópica, colite colagenosa, colite poliposa, enterocolite necrosante, colite transmural ou qualquer combinação destes.

65. Uso de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, **caracterizado** pelo fato de que consiste na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença inflamatória em um sujeito em necessidade deste.

66. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, **caracterizada** pelo fato de ser para uso em um método de tratamento de uma doença inflamatória, compreendendo a administração da composição ao sujeito.

67. Método de modulação do nível de uma molécula biológica em um

sujeito em necessidade deste, **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração, ao sujeito, de uma quantidade eficaz de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 60.

68. Método, de acordo com a reivindicação 67, **caracterizado** pelo fato de que a molécula biológica compreende uma calprotectina fecal, um ácido biliar secundário, um metabólito de triptofano, um ácido graxo de cadeia curta, um ácido graxo de cadeia média, um esfingolipídeo, uma quinurenina ou qualquer combinação destes.

69. Método, de acordo com a reivindicação 68, **caracterizado** pelo fato de que o nível de calprotectina fecal é reduzido em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

70. Método, de acordo com a reivindicação 68 ou 69, **caracterizado** pelo fato de que o nível de um ácido biliar secundário é aumentado em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

71. Método, de acordo com a reivindicação 70, **caracterizada** pelo fato de que o ácido biliar secundário compreende ácido desoxicólico (DCA), ácido 3α 12oxo-desoxicólico, ácido 3β 12α-desoxicólico (ácido 3-isodesoxicólico), ácido 7α 3-oxo-quenodesoxicólico, ácido litocólico (LCA), 3-oxo LCA, ou qualquer combinação destes.

72. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 68 a 71, **caracterizado** pelo fato de que o nível de um metabólito de triptofano é aumentado em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

73. Método, de acordo com a reivindicação 72, **caracterizado** pelo fato

de que o metabólito de triptofano é selecionado do grupo que consiste em indol, 3-metil-indol e combinações destes.

74. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 68 a 73, **caracterizado** pelo fato de que o nível de um ácido graxo de cadeia curta é aumentado em pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% no sujeito em comparação com um nível correspondente em uma referência.

75. Método, de acordo com a reivindicação 74, **caracterizado** pelo fato de que o ácido graxo de cadeia curta é selecionado de formiato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato ou qualquer combinação destes.

76. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 68 a 75, **caracterizado** pelo fato de que a referência é um nível predeterminado ou um nível no sujeito anterior à administração.

77. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 68 a 76, **caracterizado** pelo fato de que a modulação da molécula biológica está associada à remissão de uma doença inflamatória.

78. Método de tratamento de um câncer em um sujeito em necessidade deste, **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60.

79. Uso de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, **caracterizado** pelo fato de que consiste na fabricação de um medicamento para o tratamento de um câncer em um sujeito em necessidade deste.

80. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, para uso em um método de tratamento de uma doença inflamatória, **caracterizada** pelo fato de que compreende a administração da composição ao sujeito.

81. Método para inibir o crescimento de um tumor ou reduzir o tamanho de um tumor em um sujeito em necessidade deste, **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma

composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60.

82. Uso de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, **caracterizado** pelo fato de que consiste na fabricação de um medicamento para inibir o crescimento de um tumor ou reduzir o tamanho de um tumor em um sujeito em necessidade deste.

83. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, para uso em um método de tratamento de uma doença inflamatória, **caracterizada** pelo fato de que compreende a administração da composição ao sujeito.

84. Método de potencialização de uma resposta imune em um sujeito em necessidade deste, **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60.

85. Uso de uma composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, **caracterizado** pelo fato de que consiste na fabricação de um medicamento para intensificar uma resposta imune em um sujeito em necessidade deste.

86. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 60, **caracterizada** pelo fato de que é para uso em um método de potencialização de uma resposta imune em um sujeito em necessidade deste.

87. Método, uso ou composição para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 81 a 83, **caracterizado** pelo fato de que o sujeito tem um câncer.

88. Método, uso ou composição para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 83 ou 87, **caracterizado** pelo fato de que compreende adicionalmente a administração de um agente terapêutico adicional ao sujeito.

89. Método, uso ou composição para uso, de acordo com a reivindicação 88, **caracterizado** pelo fato de que o agente terapêutico adicional compreende um inibidor de checkpoint imunológico.

90. Método, uso ou composição para uso, de acordo com a reivindicação 89, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de checkpoint imunológico é selecionado de um anticorpo anti-PD-1, um anticorpo anti-PD-L1, um anticorpo anti-CTLA-4 ou uma combinação destes.

91. Método, uso ou composição para uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 78 a 83 ou 87 a 90, **caracterizados** pelo fato de que o câncer

compreende câncer de bexiga, câncer de mama, câncer de útero/do colo do útero, câncer de ovário, câncer de próstata, câncer de testículo, câncer de esôfago, câncer gastrointestinal, câncer de pâncreas, câncer colorretal, câncer de cólon, câncer de rim, câncer de cabeça e pescoço, câncer de pulmão, câncer de estômago, câncer de células germinativas, câncer ósseo, câncer de fígado, câncer de tireoide, câncer de pele, neoplasma do sistema nervoso central, linfoma, leucemia, mieloma, sarcoma, câncer relacionado a vírus ou qualquer combinação destes.

92. Método, uso ou composição para uso, de acordo com a reivindicação 78 a 83 e 87 a 91, **caracterizados** pelo fato de que a administração resulta em um número aumentado de linfócitos infiltrados por tumor em um tumor do sujeito.

93. Método, uso ou composição para uso, de acordo com a reivindicação 92, **caracterizados** pelo fato de que o número de linfócitos infiltrantes de tumor no tumor é aumentado em pelo menos cerca de 5%, pelo menos cerca de 10%, pelo menos cerca de 20%, pelo menos cerca de 30%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 50%, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%, pelo menos cerca de 80% ou pelo menos cerca de 90% ou mais em comparação com uma referência.

94. Método, uso ou composição para uso, de acordo com a reivindicação 93, **caracterizado** pelo fato de que a referência compreende o número de linfócitos que se infiltram no tumor em um tumor de um sujeito que não recebeu a composição.

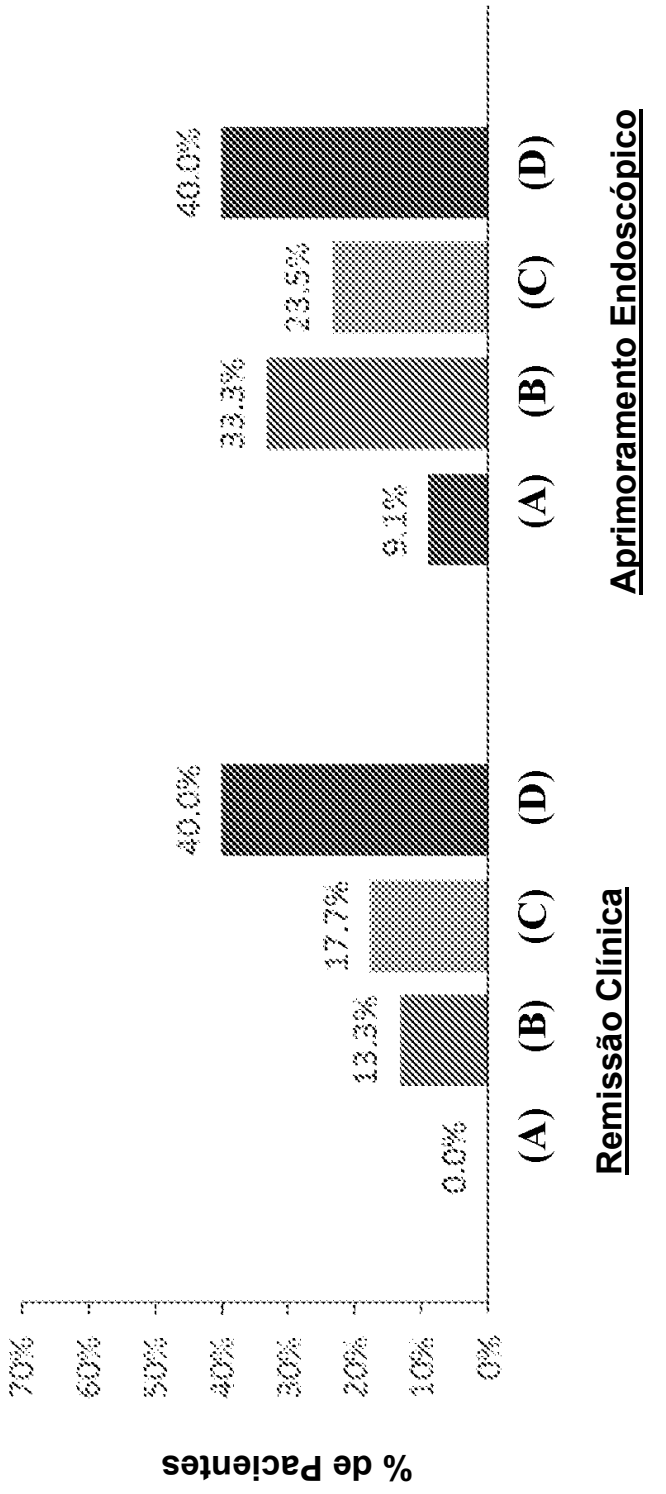

% de Pacientes
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0.0%
13.3%
17.7%
40.0%
9.1%
33.3%
23.5%
40.0%
(A)
(B)
(C)
(D)
(A)
(B)
(C)
(D)
Remissão Clínica
Aprimoramento Endoscópico

FIG. 1

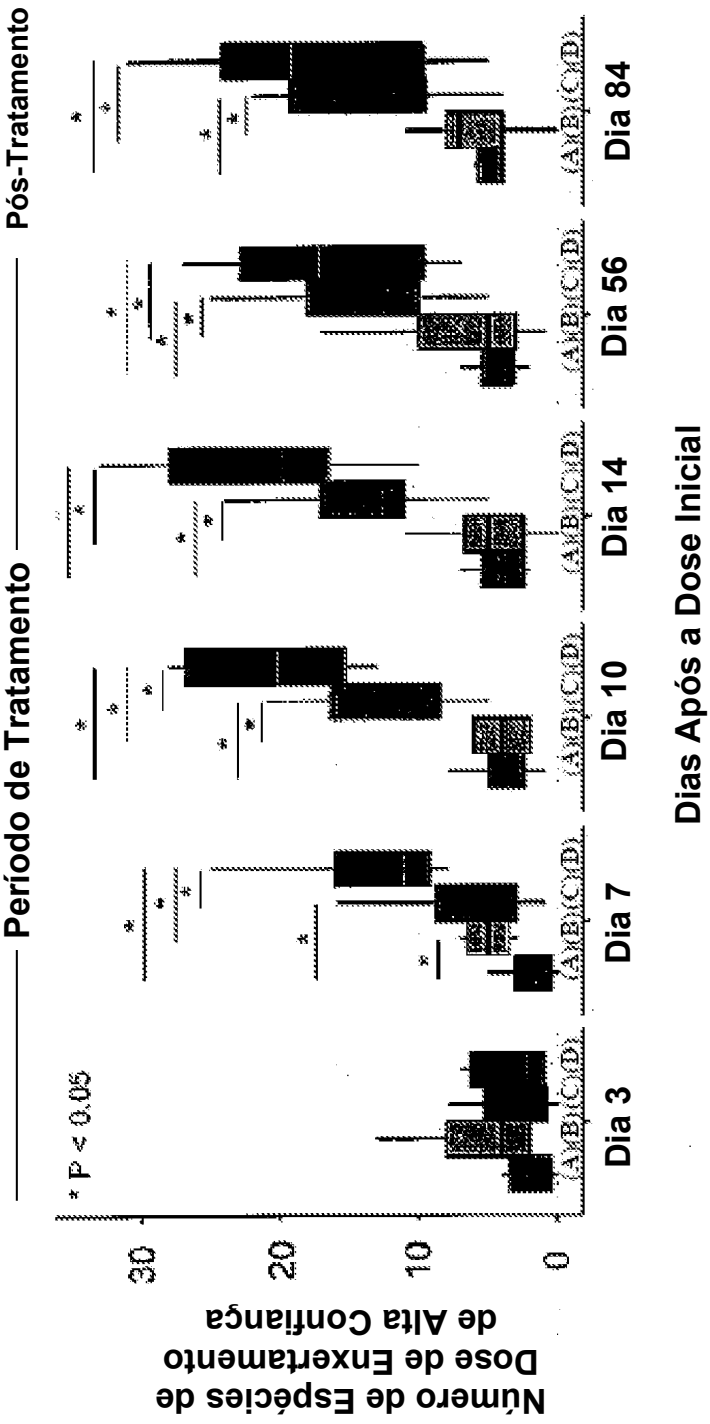

(A): pbo/pbo
(B): pbo/dose semanal
(C): vanco/dose semanal
(D): vanco/dose diária
Período de Tratamento
Pós-Tratamento
* P < 0,05
Número de Espécies de Dose de Enxertamento de Alta Confiança
0
10
20
30
(A)(B)(C)(D)
Dia 3
Dia 7
Dia 10
Dia 14
Dia 56
Dia 84
Dias Após a Dose Inicial

FIG. 2A

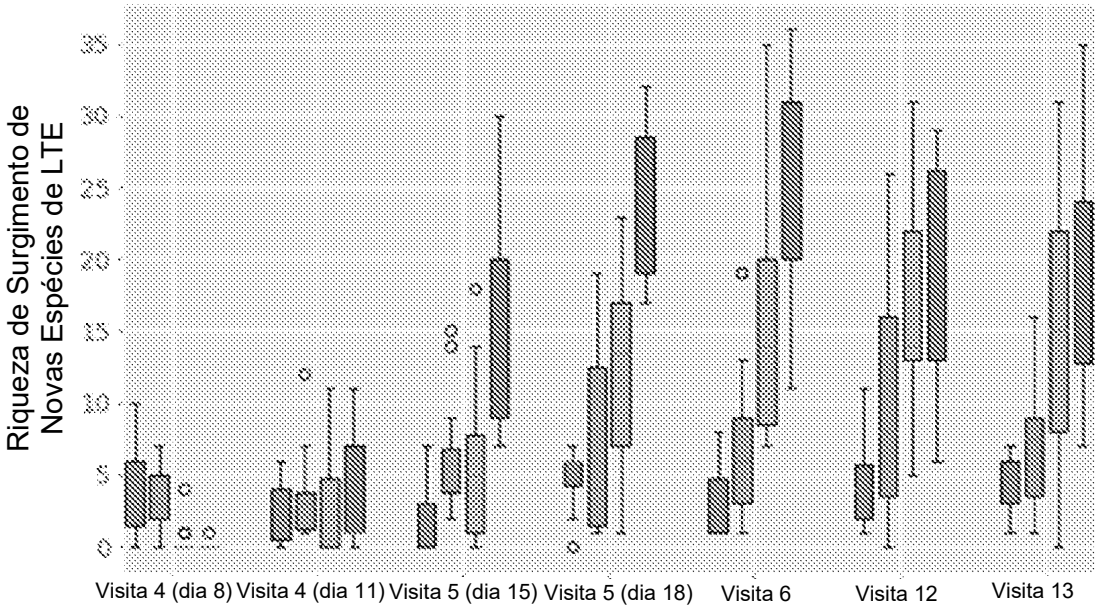

Riqueza de Surgimento de Novas Espécies de LTE
0
5
10
15
20
25
30
35
Visita 4 (dia 8)
Visita 4 (dia 11)
Visita 5 (dia 15)
Visita 5 (dia 18)
Visita 6
Visita 12
Visita 13

**FIG. 2B**

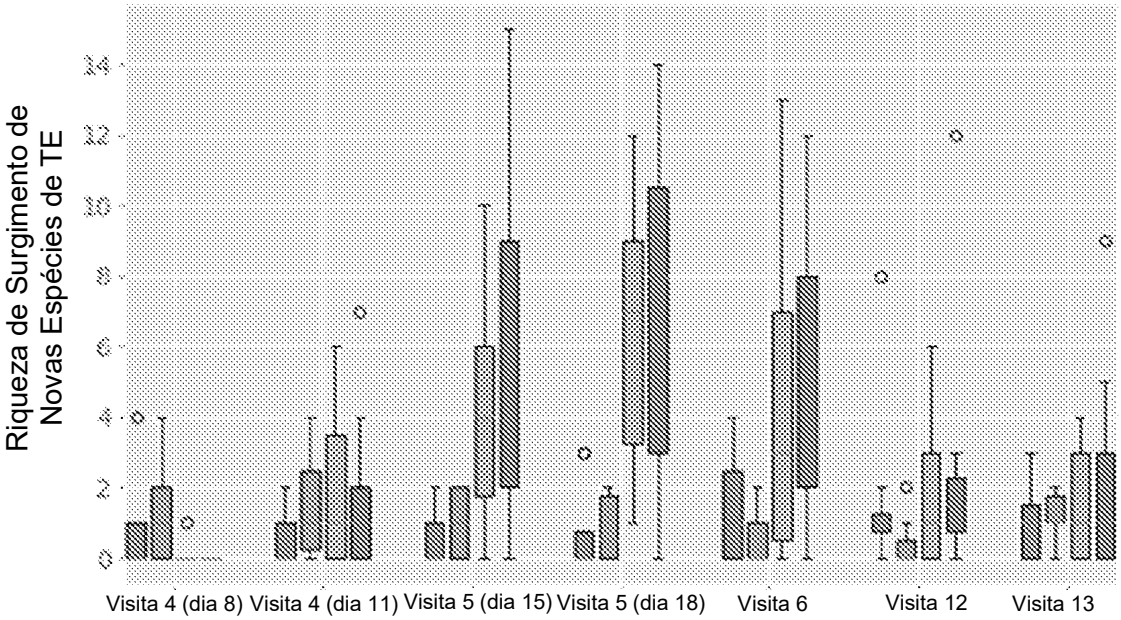

Riqueza de Surgimento de Novas Espécies de TE
0
2
4
6
8
10
12
14
Visita 4 (dia 8)
Visita 4 (dia 11)
Visita 5 (dia 15)
Visita 5 (dia 18)
Visita 6
Visita 12
Visita 13

**FIG. 2C**

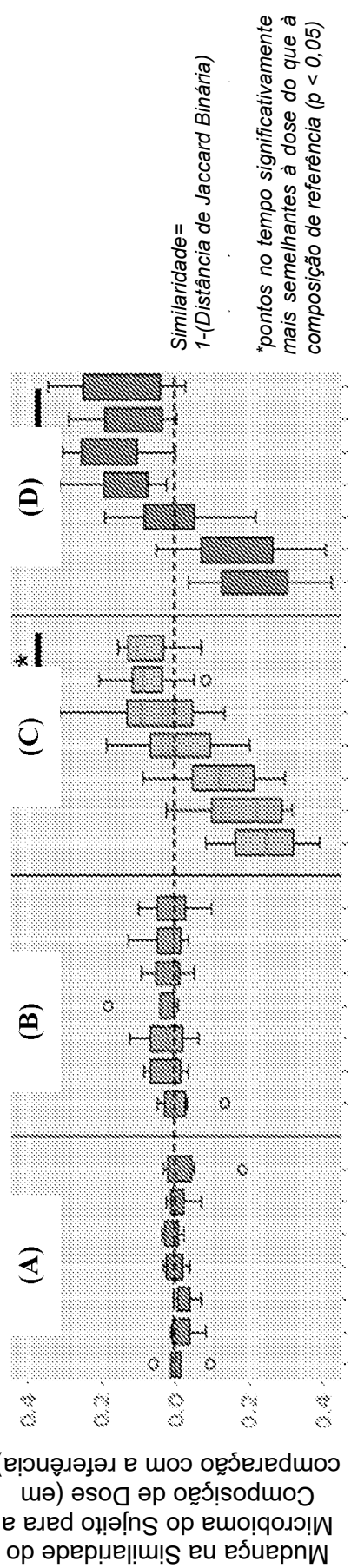

Mudança na Similaridade do Microbioma do Sujeito para a Composição de Dose (em comparação com a referência)
0.4
0.2
0.0
0.2
0.4
(A)
(B)
(C)
(D)
*
dia 0
dia 3
dia 7
dia 10
dia 14
dia 56
dia 84
Dias Após a Dose Inicial
Similaridade= 1-(Distância de Jaccard Binária)
*pontos no tempo significativamente mais semelhantes à dose do que à composição de referência (p < 0,05)

FIG. 3

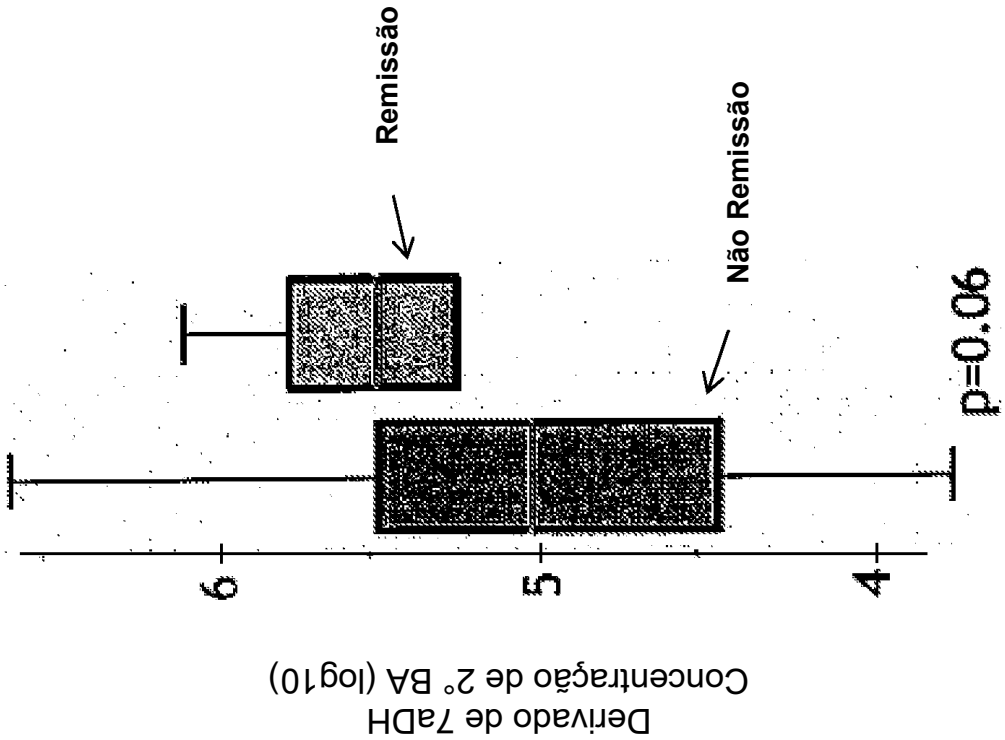

Remissão
Não Remissão
p=0,06
6
5
4
Derivado de 7aDH
Concentração de 2° BA (log10)

FIG. 4

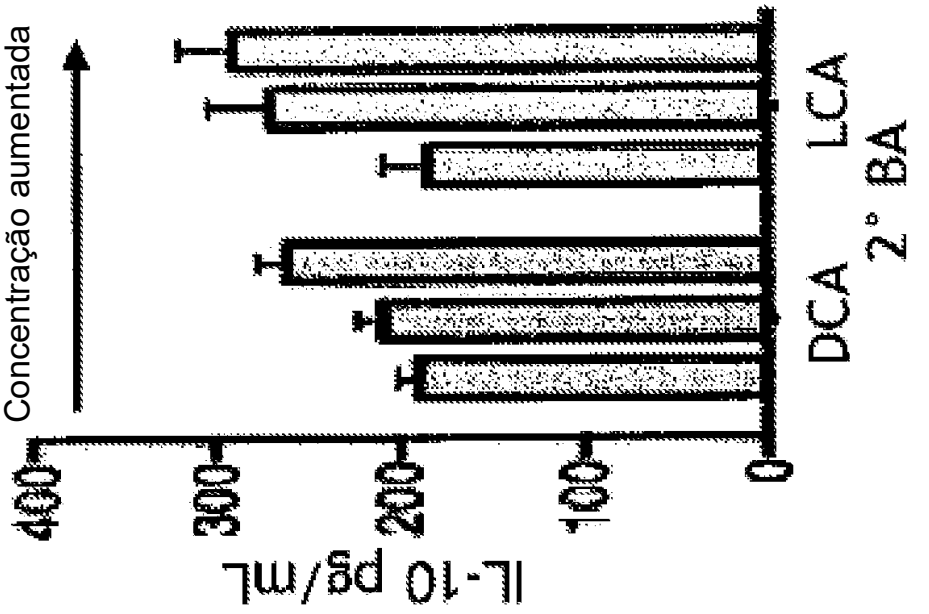

Concentração aumentada
400
300
200
100
0
IL-10 pg/mL
DCA
LCA
2° BA

FIG. 5B

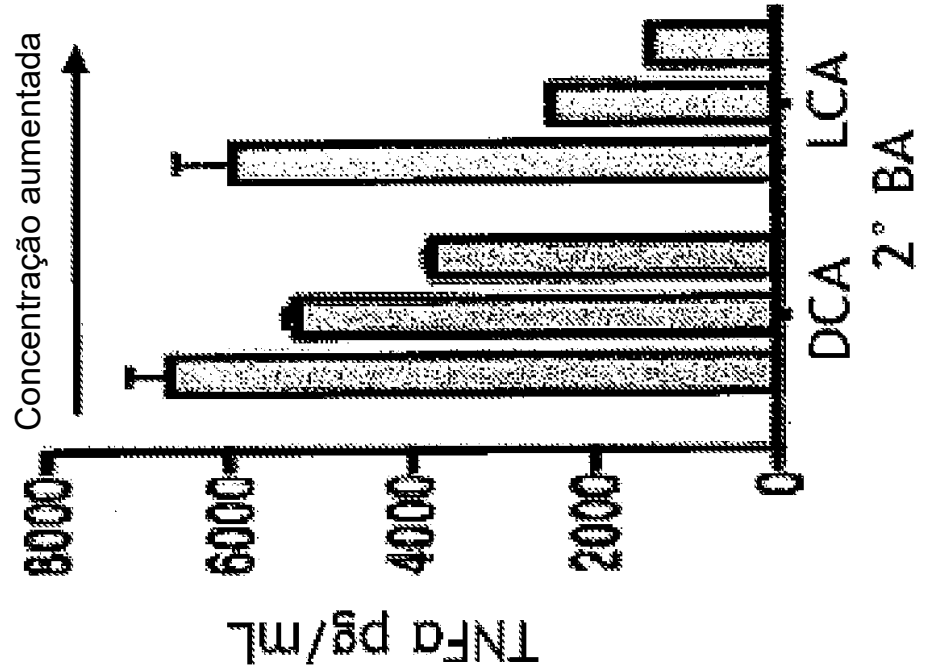

Concentração aumentada
8000
6000
4000
2000
0
TNFα pg/mL
DCA
LCA
2° BA

FIG. 5A

FIG. 6A

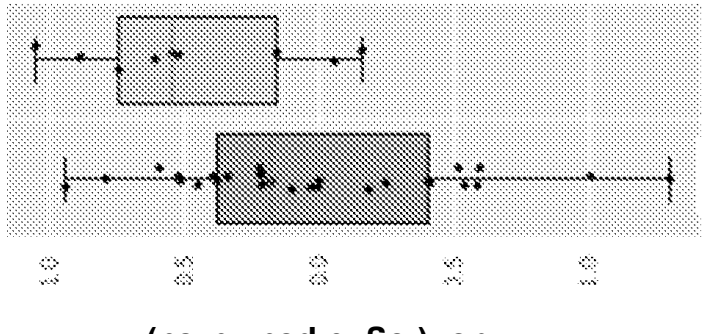



FIG. 6B

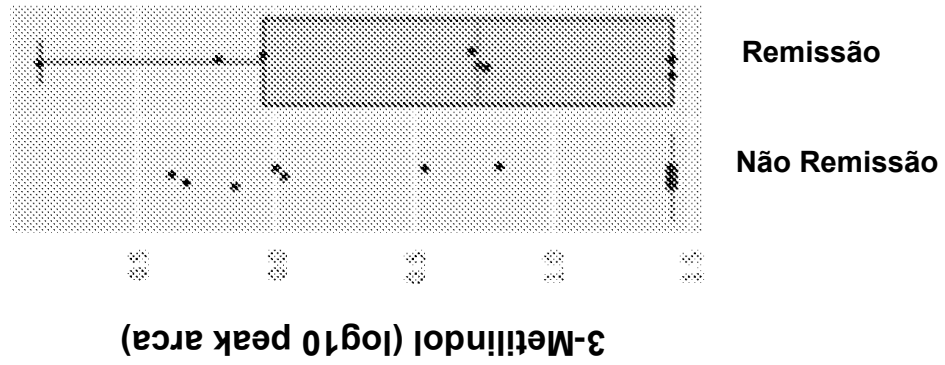
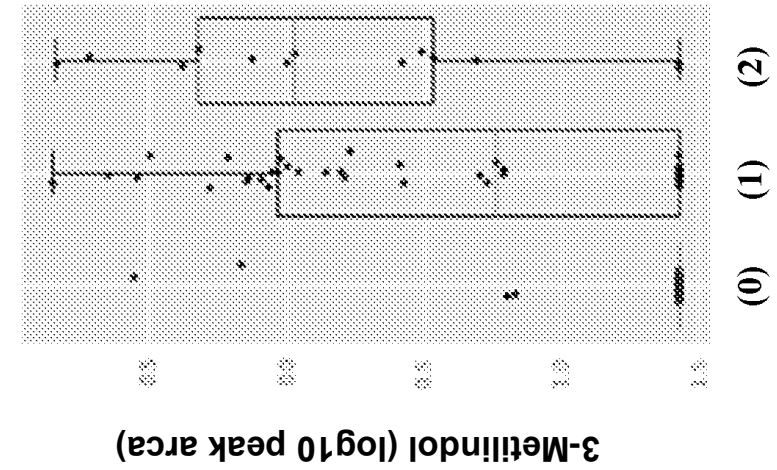



FIG. 6C



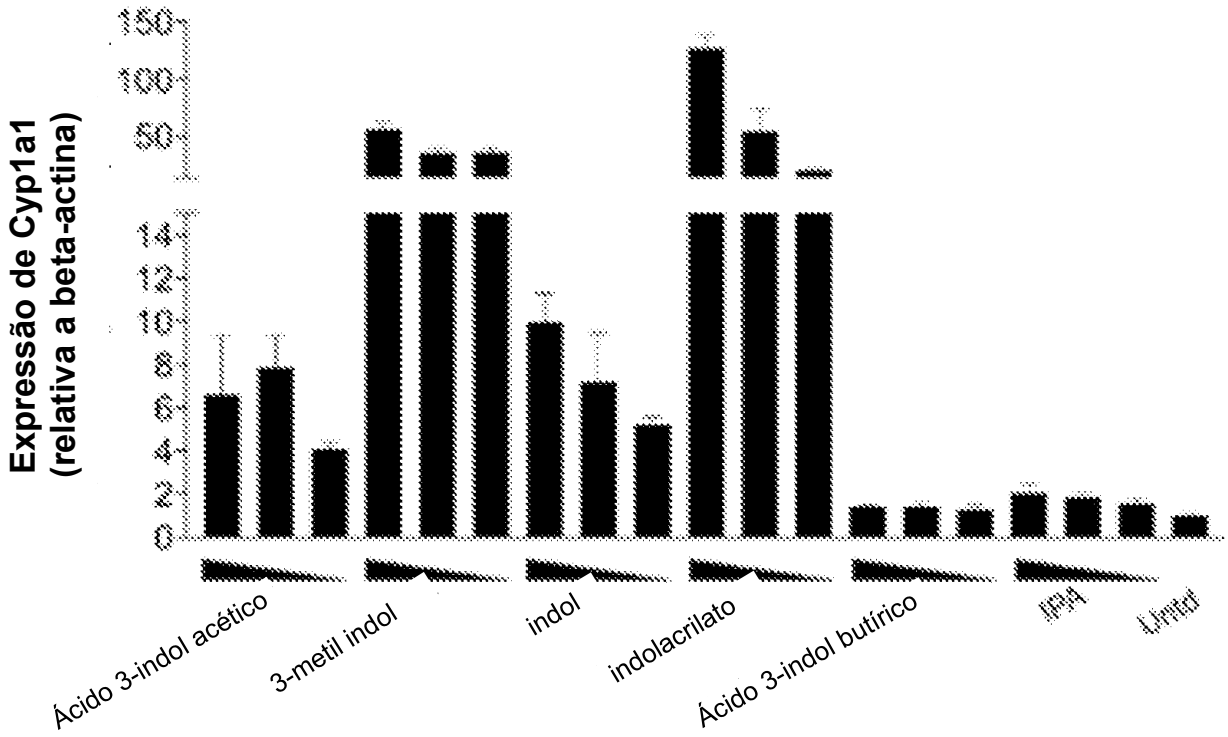

Expressão de Cyp1a1
(relativa a beta-actina)
150
100
50
14
12
10
8
6
4
2
0
Ácido 3-indol acético
3-metil indol
indol
indolacrilato
Ácido 3-indol butírico
IPA
Umtrl

**FIG. 7A**

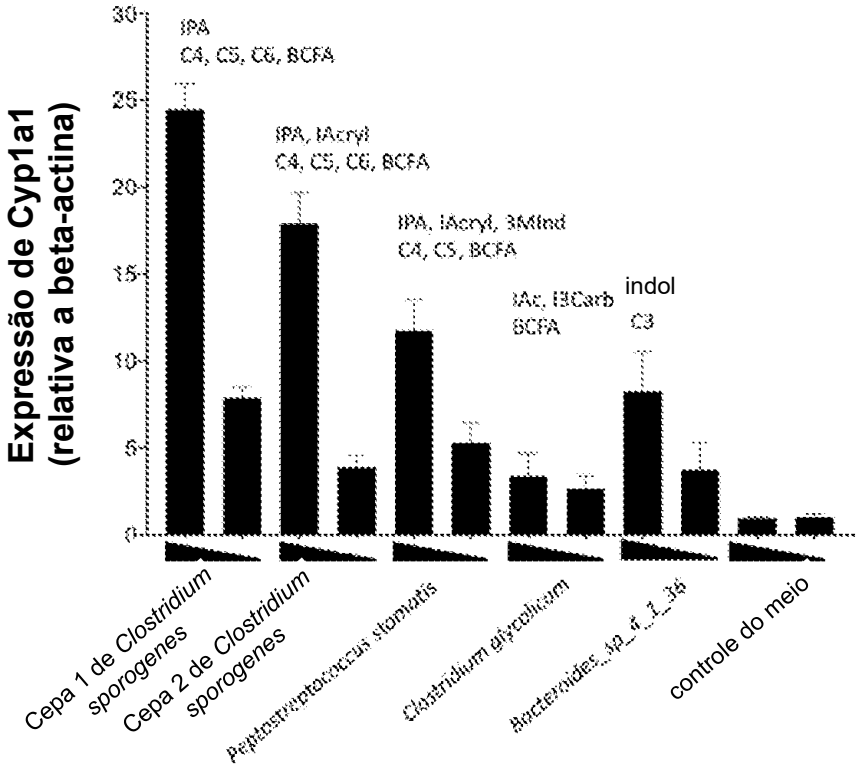

Expressão de Cyp1a1
(relativa a beta-actina)
30
25
20
15
10
5
0
IPA
C4, C5, C6, BCFA
IPA, IAcryl
C4, C5, C6, BCFA
IPA, IAcryl, 3MInd
C4, C5, BCFA
IAc, I3Carb
BCFA
indol
C3
Cepa 1 de Clostridium sporogenes
Cepa 2 de Clostridium sporogenes
Peptostreptococcus stomatis
Clostridium glycolicum
Bacteroides_sp_4_1_36
controle do meio

**FIG. 7B**

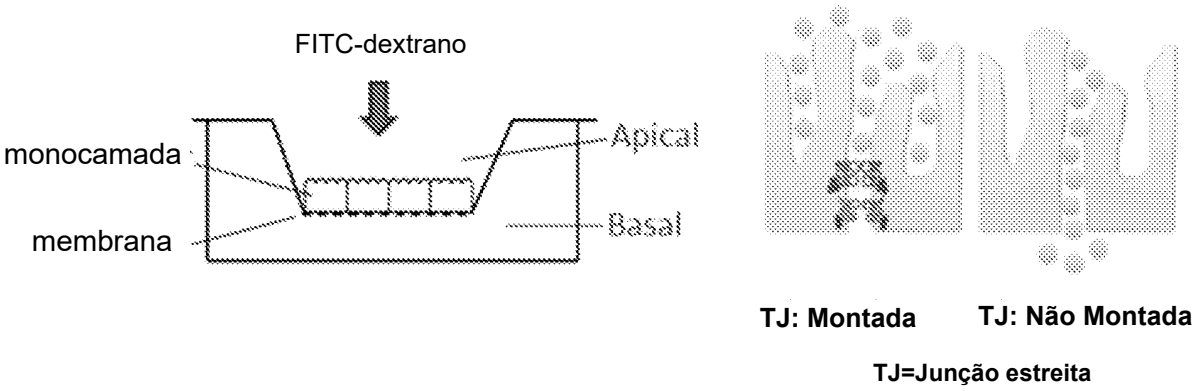

FITC-dextrano
monocamada
membrana
Apical
Basal
TJ: Montada
TJ: Não Montada
TJ=Junção estreita

FIG. 8A

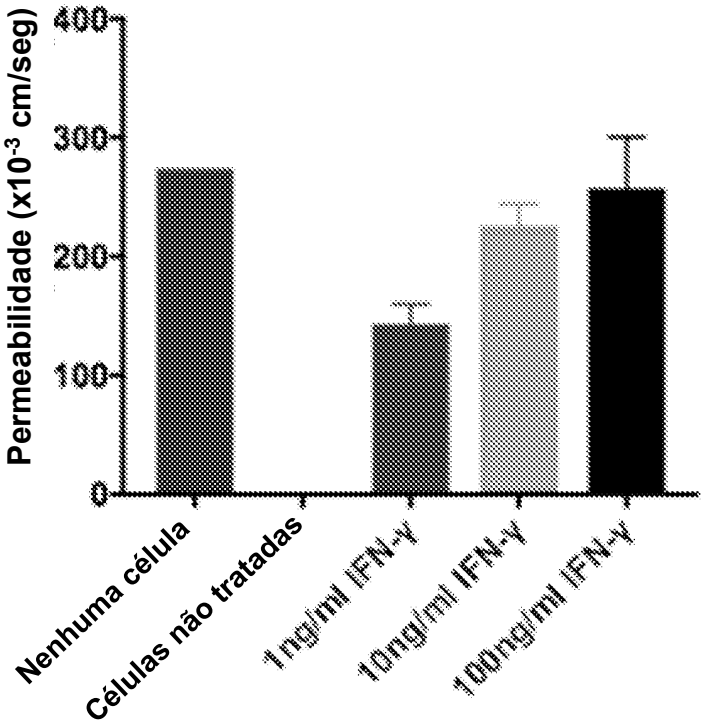

Permeabilidade (x10-3 cm/seg)
400
300
200
100
0
Nenhuma célula
Células não tratadas
1ng/ml IFN-γ
10ng/ml IFN-γ
100ng/ml IFN-γ

FIG. 8B

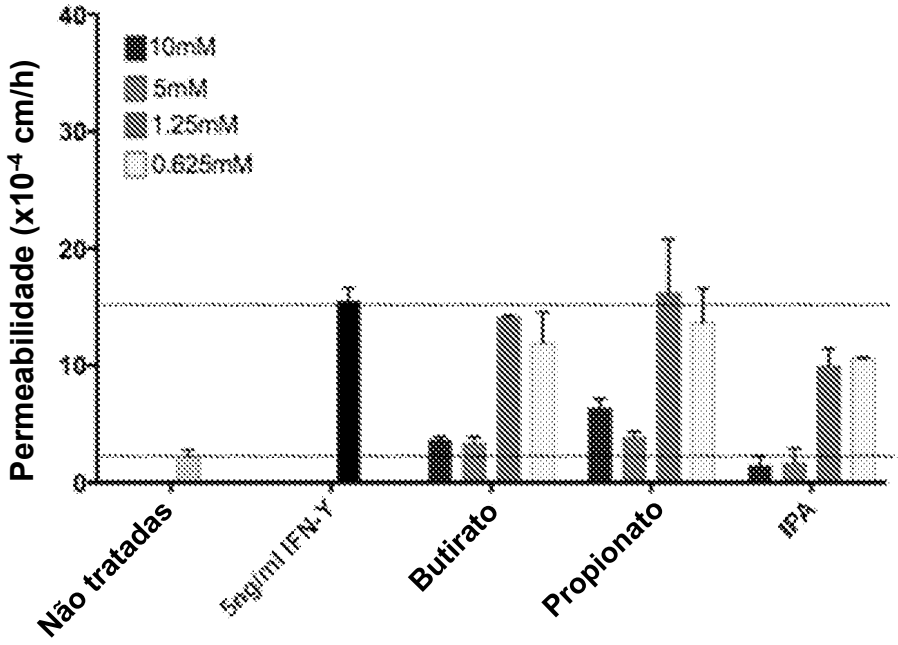

Permeabilidade (x10$^{-4}$ cm/h)
40
30
20
10
0
10mM
5mM
1.25mM
0.625mM
Não tratadas
5ng/ml IFN-γ
Butirato
Propionato
IPA

FIG. 9A

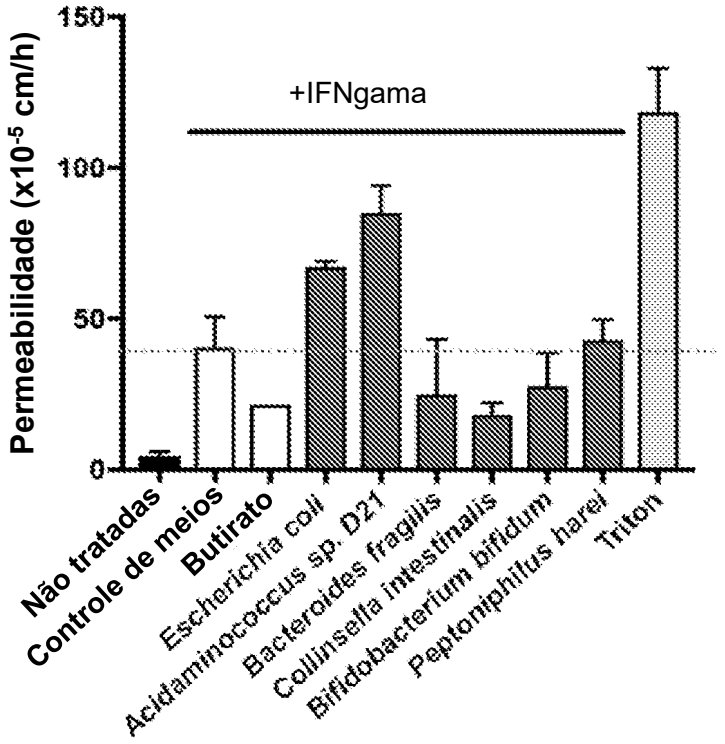
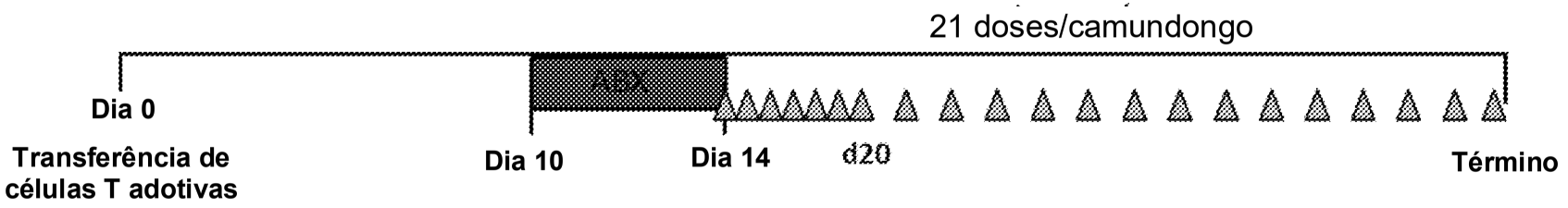

Permeabilidade (x10$^{-5}$ cm/h)
150
100
50
0
+IFNgama
Não tratadas
Controle de meios
Butirato
Escherichia coli
Acidaminococcus sp. D21
Bacteroides fragilis
Collinsella intestinalis
Bifidobacterium bifidum
Peptoniphilus harei
Triton

FIG. 9B

Petição 870210032915, de 11/04/2021, pág. 203/280




*O tratamento de ABX cria uma janela para engate de bactérias comensais de humanos*

**Título Bacteriano Total (CFU)**

**Braços do estudo:**

1. **Exposto**, sem doença (N= 5)
2. Controle com **doença** não tratada (N= 15)
3. Controle com doença tratada com **ABX** (N= 15)
4. **HHSP**
   (N=15)
5. **DE1**
   (N=15)

**FIG. 10**

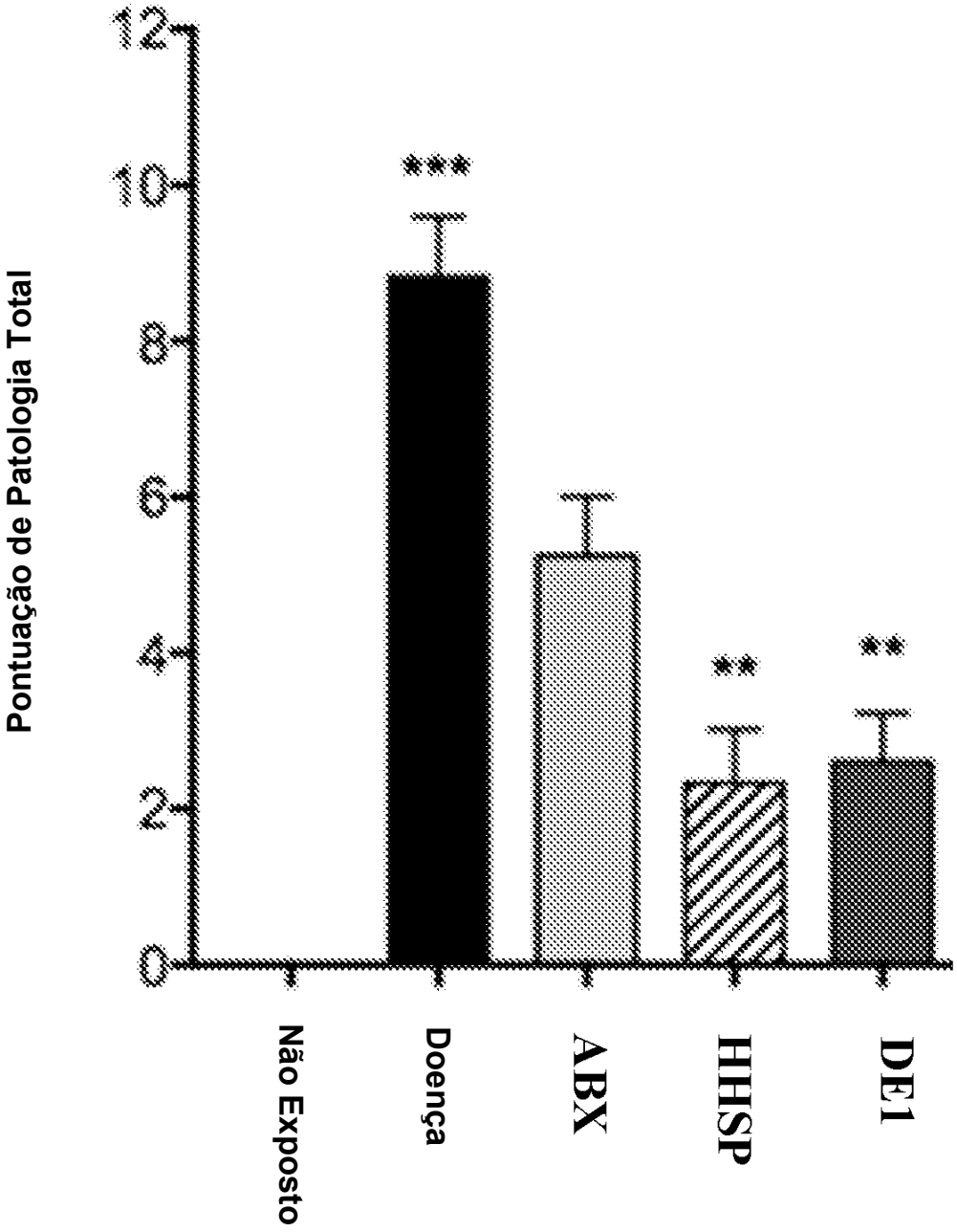

Pontuação de Patologia Total
0
2
4
6
8
10
12
***
**
**
Não Exposto
Doença
ABX
HHSP
DE1

FIG. 11

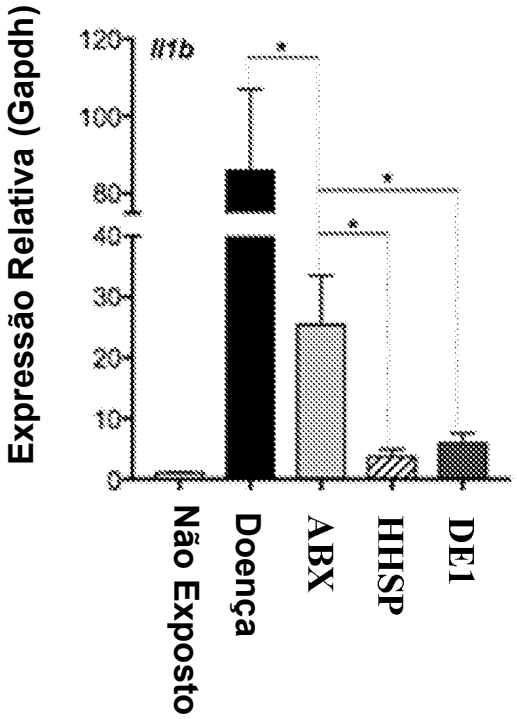



FIG. 12A

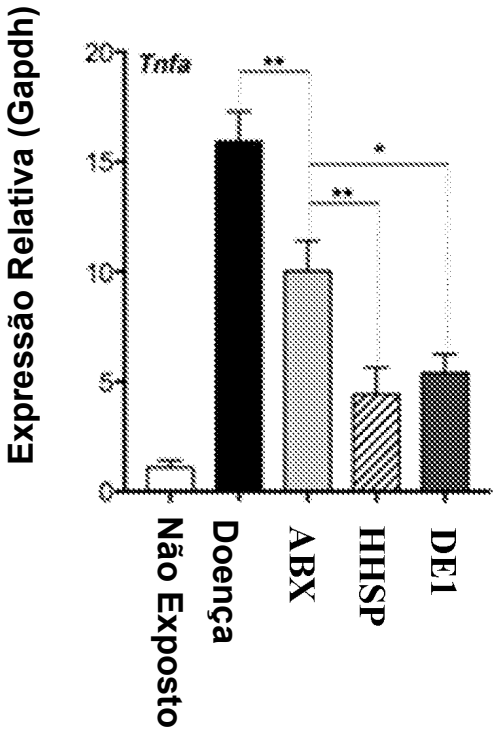



FIG. 12B

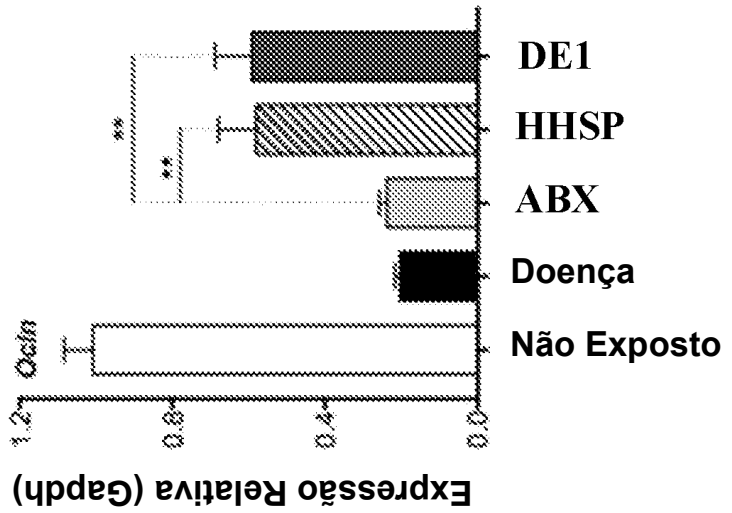



FIG. 12E

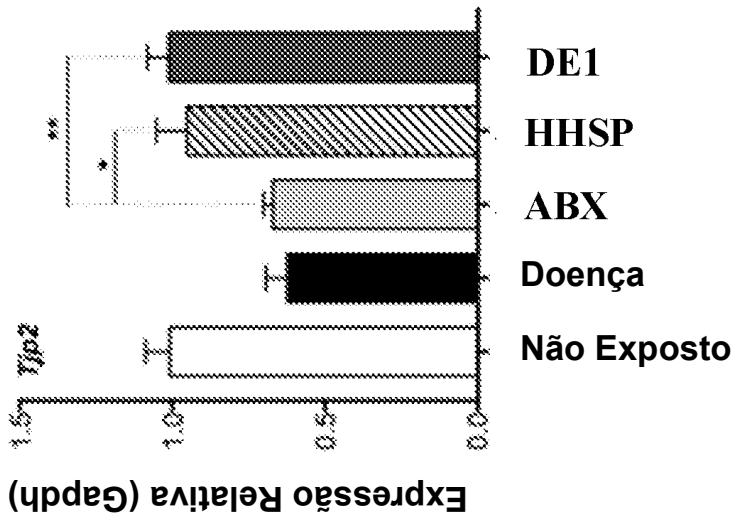



FIG. 12D

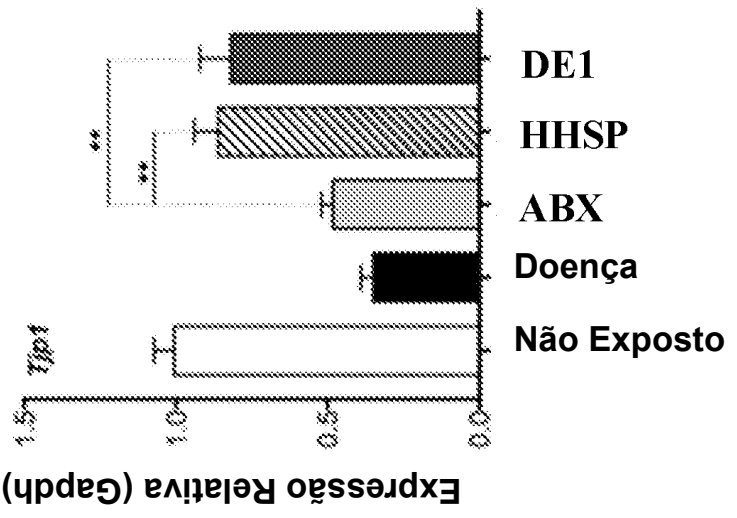



FIG. 12C

**FIG. 13**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Bacteroides_sp_1_1_30 | 0.24 | 0.21 | 0.27 | 0.15 | 0.14 | 0.20 | 0.22 | 0.10 | 1 | 0 |
| Cepa 2 de Bacteroides_sp_D20 | 0.27 | 0.08 | 0.35 | 0.11 | 0.09 | 0.12 | 0.19 | 0.17 | 1 | 0 |
| Blautia_sp_M25 | 0.03 | 0.09 | 0.23 | 0.06 | 0.06 | 0.01 | 0.00 | 0.01 | 1 | 0 |
| Blautia_wexlerae | 0.07 | 0.06 | 0.21 | 0.02 | 0.07 | 0.07 | 0.07 | -0.01 | 1 | 0 |
| Clostridium_disporicum | 0.12 | 0.08 | 0.37 | 0.21 | 0.14 | 0.19 | 0.11 | 0.17 | 1 | 0 |
| Cepa 1 de Clostridium_oroticum | 0.08 | 0.09 | 0.31 | 0.11 | 0.09 | 0.09 | 0.07 | 0.06 | 1 | 0 |
| Cepa 2 de Clostridium_oroticum | 0.06 | 0.07 | 0.19 | 0.09 | 0.11 | 0.08 | 0.05 | 0.08 | 1 | 0 |
| Cepa 1 de Eubacterium_contortum | 0.04 | 0.14 | 0.30 | 0.12 | 0.09 | 0.07 | 0.06 | 0.06 | 1 | 0 |
| Cepa 2 de Eubacterium_contortum | 0.08 | 0.15 | 0.32 | 0.15 | 0.13 | 0.09 | 0.06 | 0.09 | 1 | 0 |
| Eubacterium_hallii | 0.00 | 0.08 | 0.38 | 0.05 | 0.11 | 0.02 | -0.01 | 0.01 | 1 | 0 |
| Lachnospiraceae_bacterium_2_1_58FAA | 0.01 | 0.10 | 0.40 | 0.04 | 0.15 | 0.04 | 0.00 | 0.02 | 1 | 0 |
| Cepa 2 de Lachnospiraceae_bacterium_oral_taxon_F15 | 0.06 | 0.20 | 0.34 | 0.12 | 0.09 | 0.09 | 0.06 | 0.07 | 1 | 0 |
| Lachnospiraceae_sp_10972 | 0.07 | 0.13 | 0.23 | 0.07 | 0.11 | 0.08 | 0.10 | 0.13 | 1 | 0 |
| Cepa 1 de Ruminococcus_obeum | 0.01 | 0.12 | 0.26 | 0.14 | 0.11 | 0.10 | 0.00 | 0.01 | 1 | 0 |
| Cepa 2 de Ruminococcus_obeum | 0.01 | 0.10 | 0.25 | 0.12 | 0.09 | 0.08 | 0.01 | 0.01 | 1 | 0 |
| Cepa 3 de Ruminococcus_obeum | 0.02 | 0.09 | 0.37 | 0.13 | 0.04 | 0.02 | 0.03 | 0.02 | 1 | 0 |
| Cepa 4 de Ruminococcus_obeum | 0.00 | 0.13 | 0.35 | 0.15 | 0.08 | 0.06 | -0.01 | 0.02 | 1 | 0 |
| Cepa 5 de Ruminococcus_obeum | 0.05 | 0.15 | 0.36 | 0.08 | 0.09 | 0.06 | 0.05 | 0.05 | 1 | 0 |
| Ruminococcus_sp_5_1_39BFAA | 0.03 | 0.02 | 0.28 | 0.04 | 0.06 | 0.03 | 0.12 | 0.01 | 1 | 0 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ruminococcus_sp_K-1 | 0.06 | 0.06 | 0.28 | 0.05 | 0.04 | 0.04 | 0.05 | -0.10 | 1 | 0 |
| Bacteroides_sp_4_1_36 | 0.44 | 0.12 | 0.48 | 0.11 | 0.15 | 0.07 | 0.39 | 0.62 | 1 | 2 |
| Cepa 2 de Bacteroides_uniformis | 0.42 | 0.18 | 0.44 | 0.19 | 0.25 | 0.21 | 0.32 | 0.54 | 1 | 2 |
| Cepa 1 de Bacteroides_vulgatus | 0.47 | 0.19 | 0.48 | 0.18 | 0.27 | 0.20 | 0.42 | 0.44 | 1 | 2 |
| Cepa 2 de Bacteroides_vulgatus | 0.48 | 0.19 | 0.48 | 0.20 | 0.25 | 0.19 | 0.39 | 0.53 | 1 | 2 |
| Cepa 1 de Clostridium_bartletti | 0.49 | 0.23 | 0.49 | 0.18 | 0.34 | 0.22 | 0.48 | 0.55 | 1 | 2 |
| Cepa 1 de Clostridium_glycolicum | 0.42 | 0.08 | 0.42 | 0.42 | 0.15 | 0.10 | 0.43 | 0.54 | 1 | 2 |
| Cepa 2 de Clostridium_glycolicum | 0.48 | 0.15 | 0.48 | 0.49 | 0.12 | 0.47 | 0.49 | 0.55 | 1 | 2 |
| Clostridium_mayombei | 0.46 | 0.15 | 0.45 | 0.47 | 0.12 | 0.44 | 0.47 | 0.53 | 1 | 2 |
| Bacteroides_sp_4_1_36 | 0.44 | 0.12 | 0.48 | 0.11 | 0.15 | 0.07 | 0.39 | 0.62 | 1 | 2 |
| Cepa 2 de Bacteroides_uniformis | 0.42 | 0.18 | 0.44 | 0.19 | 0.25 | 0.21 | 0.32 | 0.54 | 1 | 2 |
| Cepa 3 de Bacteroides_eggerthii | 0.26 | 0.13 | 0.23 | 0.23 | 0.17 | 0.24 | 0.17 | 0.40 | 1 | 3 |
| Bacteroides_faecis | 0.33 | 0.17 | 0.29 | 0.20 | 0.25 | 0.14 | 0.19 | 0.41 | 1 | 3 |
| Bacteroides_intestinalis | 0.37 | 0.16 | 0.27 | 0.13 | 0.03 | 0.08 | 0.17 | 0.31 | 1 | 3 |
| Cepa 1 de Bacteroides_ovatus | 0.26 | 0.20 | 0.25 | 0.23 | 0.15 | 0.16 | 0.20 | 0.39 | 1 | 3 |
| Cepa 2 de Bacteroides_salyersiae | 0.28 | 0.12 | 0.25 | 0.13 | 0.13 | 0.10 | 0.17 | 0.41 | 1 | 3 |
| Cepa 1 de Bacteroides_sp_D20 | 0.28 | 0.09 | 0.26 | 0.11 | 0.12 | 0.11 | 0.17 | 0.32 | 1 | 3 |
| Bacteroides_sp_D22 | 0.22 | 0.20 | 0.26 | 0.21 | 0.23 | 0.12 | 0.18 | 0.28 | 1 | 3 |
| Cepa 1 de Bacteroides_uniformis | 0.33 | 0.10 | 0.34 | 0.13 | 0.13 | 0.11 | 0.21 | 0.37 | 1 | 3 |
| Cepa 2 de Blautia_coccoides | 0.19 | 0.20 | 0.22 | 0.17 | 0.11 | 0.12 | 0.20 | 0.29 | 1 | 3 |
| Cepa 1 de Clostridium_bolteae | 0.20 | 0.12 | 0.29 | 0.16 | 0.22 | 0.13 | 0.25 | 0.30 | 1 | 3 |
| Eubacterium_tenue | 0.12 | -0.06 | 0.32 | -0.07 | -0.04 | -0.03 | 0.29 | 0.47 | 1 | 3 |
| Cepa 2 de Faecalibacterium_prausnitzii | 0.00 | 0.00 | -0.01 | -0.01 | 0.00 | -0.01 | 0.35 | 0.45 | 1 | 3 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepa 3 de Faecalibacterium_prausnitzii | -0.01 | -0.01 | 0.00 | 0.02 | -0.02 | -0.01 | 0.27 | 0.33 | 1 | 3 |
| Cepa 4 de Faecalibacterium_prausnitzii | 0.03 | 0.01 | 0.05 | -0.01 | 0.25 | 0.01 | 0.26 | 0.40 | 1 | 3 |
| Parabacteroides_distasonis | 0.29 | 0.14 | 0.29 | 0.12 | 0.10 | 0.08 | 0.30 | 0.35 | 1 | 3 |
| Anaerotruncus_colihominis | 0.41 | 0.75 | 0.41 | 0.39 | 0.64 | 0.60 | 0.39 | 0.50 | 1 | 4 |
| Bacteroides_stercoris | 0.50 | 0.32 | 0.48 | 0.52 | 0.15 | 0.47 | 0.40 | 0.45 | 1 | 4 |
| Butyrivibrio_crossotus | 0.67 | 0.80 | 0.66 | 0.66 | 0.75 | 0.67 | 0.66 | 0.72 | 1 | 4 |
| Clostridiales_sp_SSC_2 | 0.36 | 0.61 | 0.54 | 0.80 | 0.76 | 0.68 | 0.75 | 0.44 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Clostridium_butyricum | 0.48 | 0.78 | 0.57 | 0.81 | 0.74 | 0.81 | 0.78 | 0.63 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Clostridium_butyricum | 0.45 | 0.61 | 0.44 | 0.57 | 0.59 | 0.60 | 0.69 | 0.55 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Clostridium_butyricum | 0.45 | 0.62 | 0.46 | 0.57 | 0.63 | 0.68 | 0.71 | 0.54 | 1 | 4 |
| Clostridium_citroniae | 0.47 | 0.43 | 0.42 | 0.41 | 0.33 | 0.62 | 0.45 | 0.60 | 1 | 4 |
| Clostridium_ghonii | 0.48 | 0.51 | 0.48 | 0.52 | 0.52 | 0.51 | 0.51 | 0.55 | 1 | 4 |
| Clostridium_sp_NML_04A032 | 0.67 | 0.72 | 0.66 | 0.67 | 0.70 | 0.66 | 0.66 | 0.71 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Clostridium_sporogenes | 0.64 | 0.76 | 0.58 | 0.82 | 0.71 | 0.74 | 0.66 | 0.68 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Clostridium_sporogenes | 0.60 | 0.72 | 0.56 | 0.58 | 0.61 | 0.63 | 0.56 | 0.57 | 1 | 4 |
| Clostridium_subterminale | 0.63 | 0.65 | 0.62 | 0.66 | 0.72 | 0.63 | 0.66 | 0.72 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Clostridium_symbiosum | 0.62 | 0.76 | 0.61 | 0.62 | 0.71 | 0.62 | 0.62 | 0.67 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Clostridium_symbiosum | 0.68 | 0.75 | 0.68 | 0.67 | 0.73 | 0.72 | 0.66 | 0.71 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Clostridium_viride | 0.57 | 0.62 | 0.58 | 0.57 | 0.65 | 0.61 | 0.56 | 0.64 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Clostridium_viride | 0.57 | 0.62 | 0.58 | 0.60 | 0.62 | 0.58 | 0.59 | 0.65 | 1 | 4 |
| Coprococcus_comes | 0.41 | 0.78 | 0.42 | 0.81 | 0.71 | 0.71 | 0.40 | 0.44 | 1 | 4 |
| Erysipelotrichaceae_bact | 0.42 | 0.70 | 0.43 | 0.50 | 0.57 | 0.77 | 0.42 | 0.50 | 1 | 4 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepa 1 de erium_3_1_53 | | | | | | | | | | |
| Cepa 1 de Eubacterium_sp_WAL_14571 | 0.73 | 0.72 | 0.79 | 0.72 | 0.82 | 0.77 | 0.72 | 0.50 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Eubacterium_sp_WAL_14571 | 0.69 | 0.69 | 0.70 | 0.69 | 0.73 | 0.69 | 0.68 | 0.34 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Flavonifractor_plautii | 0.74 | 0.84 | 0.73 | 0.77 | 0.64 | 0.75 | 0.83 | 0.80 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Flavonifractor_plautii | 0.51 | 0.55 | 0.50 | 0.51 | 0.55 | 0.57 | 0.66 | 0.63 | 1 | 4 |
| Cepa 1 de Lachnospiraceae_bacterium_3_1_57FAA | 0.27 | 0.48 | 0.51 | 0.42 | 0.52 | 0.51 | 0.48 | 0.33 | 1 | 4 |
| Cepa 2 de Lachnospiraceae_bacterium_3_1_57FAA | 0.41 | 0.63 | 0.68 | 0.64 | 0.59 | 0.66 | 0.40 | 0.49 | 1 | 4 |
| Odoribacter_splanchnicus | 0.70 | 0.53 | 0.70 | 0.71 | 0.69 | 0.74 | 0.69 | 0.74 | 1 | 4 |
| Oscillibacter_valericigenes | 0.37 | 0.38 | 0.33 | 0.35 | 0.37 | 0.21 | 0.40 | 0.47 | 1 | 4 |
| | | | | | | | | | | |
| Pseudoflavonifractor_capillosus | 0.38 | 0.48 | 0.39 | 0.39 | 0.42 | 0.52 | 0.36 | 0.43 | 1 | 4 |
| Ruminococcaceae_bacterium_D16 | 0.62 | 0.66 | 0.61 | 0.68 | 0.77 | 0.68 | 0.70 | 0.76 | 1 | 4 |
| Clostridium_sp_7_2_43FAA | 0.21 | 0.21 | 0.17 | 0.49 | 0.17 | 0.34 | 0.47 | 0.35 | 1 | 5 |
| Clostridium_tertium | 0.21 | 0.29 | 0.22 | 0.39 | 0.26 | 0.28 | 0.74 | 0.60 | 1 | 5 |
| Eubacterium_desmolans | 0.09 | 0.50 | 0.11 | 0.51 | 0.41 | 0.55 | 0.33 | -0.14 | 1 | 5 |
| Cepa 1 de Eubacterium_rectale | 0.06 | 0.49 | 0.09 | 0.54 | 0.46 | 0.39 | 0.59 | 0.18 | 1 | 5 |
| Cepa 2 de Eubacterium_rectale | 0.03 | 0.43 | 0.06 | 0.47 | 0.45 | 0.42 | 0.49 | 0.09 | 1 | 5 |
| Cepa 1 de Roseburia_hominis | 0.24 | 0.72 | 0.24 | 0.38 | 0.62 | 0.28 | 0.69 | 0.15 | 1 | 5 |
| Cepa 1 de Roseburia_intestinalis | 0.26 | 0.57 | 0.03 | 0.77 | 0.65 | 0.36 | 0.71 | 0.31 | 1 | 5 |
| Cepa 2 de Roseburia_intestinalis | 0.16 | 0.72 | 0.21 | 0.64 | 0.40 | 0.57 | 0.66 | 0.07 | 1 | 5 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepa 3 de Roseburia_intestinalis | 0.22 | 0.76 | 0.04 | 0.53 | 0.02 | 0.39 | 0.78 | 0.10 | 1 | 5 |
| Cepa 4 de Roseburia_intestinalis | 0.15 | 0.64 | 0.11 | 0.25 | 0.65 | 0.29 | 0.62 | 0.00 | 1 | 5 |
| Clostridium_clostridioforme | 0.15 | 0.25 | 0.17 | 0.25 | 0.30 | 0.30 | 0.20 | 0.23 | 1 | 6 |
| Clostridium_innocuum | 0.27 | 0.54 | 0.28 | 0.38 | 0.54 | 0.48 | 0.28 | 0.34 | 1 | 6 |
| Clostridium_tyrobutyricum | 0.24 | 0.71 | 0.22 | 0.19 | 0.58 | 0.28 | 0.20 | 0.31 | 1 | 6 |
| Cepa 2 de Coprococcus_eutactus | 0.08 | 0.41 | 0.08 | 0.10 | 0.37 | 0.17 | 0.20 | 0.08 | 1 | 6 |
| Erysipelotrichaceae_bacterium_5_2_54FAA | 0.20 | 0.25 | 0.20 | 0.28 | 0.26 | 0.27 | 0.20 | 0.27 | 1 | 6 |
| Eubacterium_dolichum | 0.26 | 0.28 | 0.24 | 0.28 | 0.29 | 0.27 | 0.33 | 0.57 | 1 | 6 |
| Eubacterium_limosum | 0.30 | 0.69 | 0.27 | 0.32 | 0.47 | 0.37 | 0.22 | 0.30 | 1 | 6 |
| Cepa 1 de Faecalibacterium_prausnitzii | 0.23 | 0.37 | 0.24 | 0.30 | 0.40 | 0.38 | 0.26 | 0.35 | 1 | 6 |
| Cepa 6 de Faecalibacterium_prausnitzii | 0.29 | 0.74 | 0.28 | 0.27 | 0.60 | 0.36 | 0.26 | 0.37 | 1 | 6 |
| Cepa 1 de Gemmiger_formiciis | 0.19 | 0.46 | 0.18 | 0.45 | 0.42 | 0.46 | 0.21 | 0.46 | 1 | 6 |
| Cepa 2 de Gemmiger_formiciis | 0.19 | 0.40 | 0.17 | 0.37 | 0.39 | 0.34 | 0.20 | 0.45 | 1 | 6 |
| Cepa 3 de Gemmiger_formiciis | 0.19 | 0.58 | 0.21 | 0.28 | 0.52 | 0.50 | 0.20 | 0.26 | 1 | 6 |
| Cepa 2 de Roseburina_hominis | 0.16 | 0.57 | 0.27 | 0.39 | 0.40 | 0.59 | 0.00 | 0.41 | 1 | 6 |
| Subdoligranulum_variabile | 0.11 | 0.46 | 0.13 | 0.28 | 0.31 | 0.29 | 0.09 | 0.31 | 1 | 6 |
| Akkermansia_muciniphila | 0.00 | 0.03 | 0.01 | 0.08 | 0.09 | 0.06 | 0.07 | 0.13 | 0 | 1 |
| Alistipes_finegoldii | 0.06 | 0.04 | 0.03 | 0.07 | 0.02 | 0.04 | 0.08 | 0.09 | 0 | 1 |
| Alistipes_onderdonkii | 0.08 | 0.08 | 0.02 | 0.10 | 0.15 | 0.22 | 0.16 | 0.27 | 1 | 1 |
| Alistipes_shahii | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.14 | 0.10 | 0.14 | 0.14 | 0.27 | 1 | 1 |
| Anaerotruncus_colihominis | 0.07 | 0.25 | 0.15 | 0.10 | 0.08 | 0.15 | 0.10 | 0.17 | 0 | 1 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepa 1 de Bacteroides_caccae | 0.10 | 0.08 | 0.07 | 0.09 | 0.06 | 0.06 | 0.11 | 0.14 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Bacteroides_caccae | 0.12 | 0.13 | 0.12 | 0.13 | 0.08 | 0.12 | 0.23 | 0.27 | 1 | 1 |
| Cepa 3 de Bacteroides_caccae | 0.24 | 0.09 | 0.15 | 0.15 | 0.11 | 0.11 | 0.24 | 0.17 | 0 | 1 |
| Bacteroides_dorei | 0.21 | 0.08 | 0.11 | 0.11 | 0.09 | 0.11 | 0.19 | 0.25 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Bacteroides_eggerthii | 0.10 | 0.09 | 0.08 | 0.11 | 0.08 | 0.09 | 0.10 | 0.14 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Bacteroides_eggerthii | 0.13 | 0.07 | 0.13 | 0.14 | 0.08 | 0.13 | 0.11 | 0.16 | 0 | 1 |
| Bacteroides_nordii | 0.06 | 0.12 | 0.15 | 0.19 | 0.19 | 0.13 | 0.06 | 0.01 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Bacteroides_ovatus | 0.07 | 0.05 | 0.07 | 0.07 | 0.05 | 0.07 | 0.07 | 0.12 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Bacteroides_salyersiae | 0.10 | 0.07 | 0.12 | 0.08 | 0.05 | 0.07 | 0.07 | 0.15 | 0 | 1 |
| Bacteroides_sp_1_1_6 | 0.26 | 0.15 | 0.21 | 0.12 | 0.15 | 0.17 | 0.18 | 0.11 | 1 | 1 |
| Bacteroides_sp_2_1_22 | 0.16 | 0.17 | 0.17 | 0.15 | 0.06 | 0.14 | 0.15 | 0.06 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Bacteroides_sp_3_1_23 | 0.09 | 0.07 | 0.13 | 0.09 | 0.04 | 0.07 | 0.05 | 0.13 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Bacteroides_sp_3_1_23 | 0.09 | 0.08 | 0.09 | 0.07 | 0.07 | 0.08 | 0.09 | 0.13 | 0 | 1 |
| Bifidobacterium_adolescentis | -0.03 | 0.08 | -0.01 | 0.10 | 0.05 | 0.08 | 0.13 | 0.01 | 0 | 1 |
| Bifidobacterium_catenulatum | 0.03 | 0.09 | 0.03 | 0.10 | 0.09 | 0.09 | 0.05 | 0.07 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Bifidobacterium_longum | -0.01 | 0.04 | -0.02 | 0.05 | 0.03 | 0.04 | -0.02 | -0.06 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Bifidobacterium_longum | -0.04 | 0.03 | -0.03 | 0.05 | 0.01 | 0.04 | -0.03 | -0.05 | 0 | 1 |
| Cepa 4 de Bifidobacterium_longum | 0.01 | 0.05 | 0.00 | 0.09 | -0.03 | 0.05 | 0.01 | -0.11 | 0 | 1 |
| Cepa 5 de Bifidobacterium_longum | 0.01 | 0.09 | 0.01 | 0.10 | 0.10 | 0.13 | 0.03 | -0.16 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Bifidobacterium_pseudocatenulatum | 0.08 | 0.18 | 0.10 | 0.15 | 0.14 | 0.19 | 0.21 | -0.09 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Bifidobacterium_pseudocatenulatum | 0.04 | 0.08 | 0.04 | 0.08 | -0.03 | 0.07 | 0.09 | -0.05 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Blautia_coccoides | 0.14 | 0.13 | 0.15 | 0.13 | 0.13 | 0.09 | 0.13 | 0.20 | 0 | 1 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Blautia_glucerasei | 0.04 | 0.02 | 0.11 | 0.04 | 0.09 | 0.07 | 0.02 | 0.00 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Blautia_producta | 0.14 | 0.14 | 0.19 | 0.07 | 0.08 | -0.06 | 0.18 | 0.24 | 1 | 1 |
| Cepa 2 de Blautia_producta | 0.13 | 0.09 | 0.16 | 0.15 | 0.11 | 0.09 | 0.14 | 0.18 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Blautia_producta | 0.11 | 0.06 | 0.14 | 0.06 | 0.10 | 0.07 | 0.11 | 0.20 | 0 | 1 |
| Cepa 4 de Blautia_producta | 0.10 | 0.10 | 0.16 | 0.13 | 0.10 | 0.12 | 0.12 | 0.17 | 0 | 1 |
| Cepa 5 de Blautia_producta | 0.12 | 0.16 | 0.17 | 0.18 | 0.09 | 0.13 | 0.13 | 0.21 | 0 | 1 |
| Cepa 6 de Blautia_producta | 0.12 | 0.09 | 0.14 | 0.11 | 0.13 | 0.12 | 0.15 | 0.18 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Blautia_schinkii | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.11 | 0.08 | 0.09 | 0.05 | 0.07 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Blautia_schinkii | 0.08 | 0.10 | 0.15 | 0.11 | 0.02 | 0.12 | 0.07 | -0.01 | 0 | 1 |
| Clostridiaceae_bacterium_END_2 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.03 | 0.01 | -0.02 | 0.00 | -0.02 | 0 | 1 |
| Clostridium_aldenense | 0.10 | 0.13 | 0.20 | 0.09 | 0.14 | 0.16 | 0.10 | 0.10 | 1 | 1 |
| Clostridium_asparagiforme | 0.07 | 0.13 | 0.08 | 0.11 | 0.10 | 0.03 | 0.06 | 0.08 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Clostridium_bartlettii | 0.07 | 0.06 | 0.08 | 0.13 | 0.10 | 0.17 | 0.17 | 0.22 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Clostridium_bolteae | 0.20 | 0.18 | 0.18 | 0.13 | 0.18 | 0.23 | 0.28 | 0.23 | 1 | 1 |
| Cepa 3 de Clostridium_bolteae | 0.11 | 0.21 | 0.12 | 0.16 | 0.23 | 0.17 | 0.13 | 0.15 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Clostridium_hathewayi | 0.02 | 0.06 | 0.12 | 0.12 | 0.06 | 0.04 | 0.06 | 0.07 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Clostridium_hathewayi | 0.04 | 0.11 | 0.12 | 0.10 | 0.07 | 0.03 | 0.04 | 0.03 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Clostridium_hathewayi | 0.02 | 0.11 | 0.09 | 0.10 | 0.11 | 0.05 | 0.03 | 0.08 | 0 | 1 |
| Clostridium_hylemonae | 0.10 | 0.06 | 0.06 | 0.09 | 0.16 | 0.07 | 0.09 | 0.11 | 0 | 1 |
| Clostridium_lactatifermentans | 0.04 | 0.07 | 0.11 | 0.03 | 0.04 | -0.01 | 0.05 | 0.07 | 0 | 1 |
| Clostridium_lavalense | 0.04 | 0.14 | 0.04 | 0.10 | 0.10 | 0.05 | 0.10 | 0.10 | 0 | 1 |
| Clostridium_leptum | 0.00 | -0.02 | 0.02 | 0.00 | -0.01 | -0.02 | 0.01 | 0.00 | 0 | 1 |
| Clostridium_nexile | 0.13 | 0.24 | 0.06 | 0.10 | -0.07 | 0.20 | 0.19 | 0.18 | 0 | 1 |
| Clostridium_scindens | 0.10 | 0.15 | 0.13 | 0.09 | 0.13 | 0.16 | 0.12 | 0.12 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Clostridium_spiroforme | 0.04 | 0.05 | 0.01 | 0.05 | 0.04 | 0.02 | 0.02 | 0.02 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Clostridium_spiroforme | 0.01 | 0.02 | -0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.03 | 0.00 | 0.02 | 0 | 1 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Clostridium_straminisolvens | -0.04 | -0.03 | -0.04 | -0.04 | 0.01 | -0.06 | -0.02 | -0.04 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Coprobacillus_sp_D7 | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.05 | 0.00 | 0.04 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Coprobacillus_sp_D7 | -0.04 | -0.01 | -0.01 | 0.00 | -0.02 | 0.00 | -0.03 | 0.00 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Coprococcus_eutactus | -0.01 | 0.22 | 0.00 | -0.01 | 0.00 | -0.01 | 0.27 | 0.14 | 1 | 1 |
| Coriobacteriaceae_sp_7_10_1_b | 0.06 | 0.07 | 0.06 | 0.07 | 0.10 | 0.06 | 0.06 | 0.07 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Dorea_formicigenerans | -0.02 | 0.06 | 0.00 | 0.08 | 0.04 | 0.03 | 0.01 | 0.00 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Dorea_formicigenerans | 0.07 | 0.13 | 0.05 | 0.07 | 0.10 | 0.10 | 0.07 | 0.10 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Dorea_formicigenerans | 0.09 | 0.16 | 0.07 | 0.07 | 0.11 | 0.12 | 0.08 | 0.11 | 0 | 1 |
| Cepa 4 de Dorea_formicigenerans | 0.00 | 0.09 | 0.08 | 0.04 | 0.10 | 0.03 | 0.06 | 0.00 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Dorea_longicatena | 0.10 | 0.12 | 0.11 | 0.13 | 0.10 | 0.14 | 0.10 | 0.15 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Dorea_longicatena | 0.09 | 0.11 | 0.08 | 0.09 | 0.11 | 0.11 | 0.09 | 0.12 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Dorea_longicatena | 0.08 | 0.09 | 0.06 | 0.06 | 0.04 | 0.08 | 0.07 | 0.01 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Eggerthella_lenta | 0.06 | 0.06 | 0.12 | 0.13 | 0.07 | 0.07 | 0.18 | 0.09 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Eggerthella_lenta | -0.03 | -0.01 | -0.04 | 0.01 | -0.01 | -0.02 | -0.03 | -0.02 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Eggerthella_lenta | 0.06 | 0.06 | 0.06 | 0.07 | 0.09 | 0.04 | 0.03 | 0.05 | 0 | 1 |
| Eggerthella_sp_1_3_56FAA | 0.06 | 0.06 | 0.06 | 0.09 | 0.05 | 0.06 | 0.03 | 0.05 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Erysipelotrichaccae_bacterium_1_53 | 0.06 | 0.07 | 0.05 | 0.06 | 0.06 | 0.04 | 0.05 | 0.07 | 0 | 1 |
| Eubacterium_siraeum | -0.04 | -0.01 | -0.01 | -0.01 | 0.04 | -0.02 | 0.04 | -0.02 | 0 | 1 |
| Eubacterium_ventriosum | -0.04 | 0.22 | -0.04 | -0.02 | -0.04 | -0.03 | 0.25 | 0.14 | 0 | 1 |
| Cepa 5 de Faecalibacterium_prausnitzii | 0.01 | 0.00 | 0.04 | -0.01 | -0.01 | 0.00 | -0.01 | 0.04 | 0 | 1 |
| Cepa 7 de Faecalibacterium_prausnitzii | 0.01 | 0.00 | -0.01 | -0.02 | 0.04 | 0.01 | 0.09 | 0.26 | 1 | 1 |
| Hydrogenoanaerobacteri | 0.08 | 0.15 | 0.09 | 0.05 | 0.14 | 0.09 | 0.07 | 0.18 | 0 | 1 |

**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| um_saccharovorans | | | | | | | | | | |
| Lachnospira_pectinoschiza | -0.02 | -0.02 | -0.02 | 0.00 | 0.03 | -0.02 | 0.01 | -0.03 | 0 | 1 |
| Lachnospiraceae_bacterium_1_4_56FAA | -0.02 | -0.03 | 0.01 | -0.03 | 0.01 | -0.01 | -0.01 | 0.00 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Lachnospiraceae_bacterium_1_4_56FAA | 0.13 | 0.12 | 0.12 | 0.10 | 0.19 | 0.12 | 0.14 | 0.13 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Lachnospiraceae_bacterium_1_4_56FAA | 0.12 | 0.12 | 0.12 | 0.11 | 0.16 | 0.11 | 0.12 | 0.17 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Lachnospiraceae_bacterium_1_4_56FAA | 0.08 | 0.11 | 0.08 | 0.10 | 0.11 | 0.12 | 0.08 | 0.11 | 0 | 1 |
| Cepa 4 de Lachnospiraceae_bacterium_1_4_56FAA | 0.15 | 0.17 | 0.15 | 0.14 | 0.19 | 0.13 | 0.16 | 0.20 | 0 | 1 |
| Cepa 5 de Lachnospiraceae_bacterium_1_4_56FAA | 0.15 | 0.15 | 0.12 | 0.11 | 0.16 | 0.10 | 0.12 | 0.17 | 0 | 1 |
| Lachnospiraceae_bacterium_6_1_63FAA | 0.00 | 0.05 | 0.01 | 0.04 | 0.06 | 0.04 | 0.02 | 0.07 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Lachnospiraceae_bacterium_oral_taxon_F15 | 0.01 | 0.04 | 0.14 | 0.04 | 0.17 | 0.05 | 0.02 | 0.02 | 0 | 1 |
| Lachnospiraceae_sp_11041 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | -0.02 | 0.07 | 0.01 | 0.01 | 0.06 | 0 | 1 |
| Lactobacillus_gasseri | -0.02 | -0.02 | -0.01 | -0.04 | -0.02 | -0.04 | -0.04 | -0.16 | 0 | 1 |
| Lactonifactor_longoviformis | -0.03 | -0.03 | 0.00 | -0.03 | 0.00 | 0.00 | -0.02 | -0.02 | 0 | 1 |
| Roseburia_faecalis | -0.03 | 0.01 | -0.02 | 0.02 | 0.01 | 0.04 | 0.65 | 0.03 | 1 | 1 |
| Roseburia_inulinivorans | 0.13 | 0.29 | 0.13 | 0.24 | 0.25 | 0.26 | 0.25 | 0.15 | 1 | 1 |
| Ruminococcus_albus | 0.00 | -0.04 | -0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | -0.01 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Ruminococcus_bromii | -0.02 | 0.00 | -0.01 | -0.03 | 0.00 | -0.01 | 0.01 | -0.05 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Ruminococcus_bromii | -0.01 | -0.07 | -0.02 | 0.00 | 0.02 | -0.01 | 0.01 | -0.02 | 0 | 1 |
| Cepa 3 de Ruminococcus_bromii | -0.02 | 0.00 | -0.01 | -0.02 | -0.01 | -0.01 | -0.03 | -0.02 | 0 | 1 |
| Ruminococcus_gnavus | 0.05 | 0.11 | 0.15 | 0.14 | 0.15 | 0.15 | 0.03 | 0.02 | 0 | 1 |
| Ruminococcus_hansenii | 0.00 | 0.07 | 0.00 | 0.03 | 0.04 | 0.06 | 0.00 | 0.06 | 0 | 1 |

Petição 870210032915, de 11/04/2021, pág. 216/280



**FIG. 13 (cont.)**

| Espécie | Inibição de HDAC basal | Inibição de HDAC por glicose | Inibição de HDAC por Fucose | Inibição de HDAC por Sacarose | Inibição de HDAC por pectina | Inibição de HDAC por fos/mulina | Inibição de HDAC por Amido | Inibição de HDAC por Mucina | Inibição de HDAC em qualquer fonte de C (25/18% de corte) | Cluster de HDAC |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cepa 1 de Ruminococcus_lactaris | -0.03 | 0.02 | -0.02 | -0.02 | -0.01 | -0.01 | -0.02 | 0.10 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Ruminococcus_lactaris | 0.03 | 0.08 | 0.10 | 0.04 | 0.00 | -0.04 | 0.05 | 0.06 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Ruminococcus_torques | -0.03 | 0.00 | -0.02 | -0.03 | -0.02 | -0.04 | -0.06 | -0.31 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Ruminococcus_torques | -0.05 | 0.05 | -0.01 | 0.00 | 0.02 | 0.00 | -0.01 | 0.08 | 0 | 1 |
| Tannerella_sp_6_1_58FAA_CT1 | 0.03 | 0.01 | 0.05 | 0.03 | 0.01 | 0.05 | 0.05 | 0.04 | 0 | 1 |
| Cepa 1 de Turicibacter_sanguinis | 0.04 | 0.06 | 0.05 | 0.05 | 0.06 | 0.04 | 0.04 | 0.07 | 0 | 1 |
| Cepa 2 de Turicibacter_sanguinis | -0.01 | 0.05 | 0.00 | 0.01 | 0.00 | -0.02 | -0.01 | -0.04 | 0 | 1 |

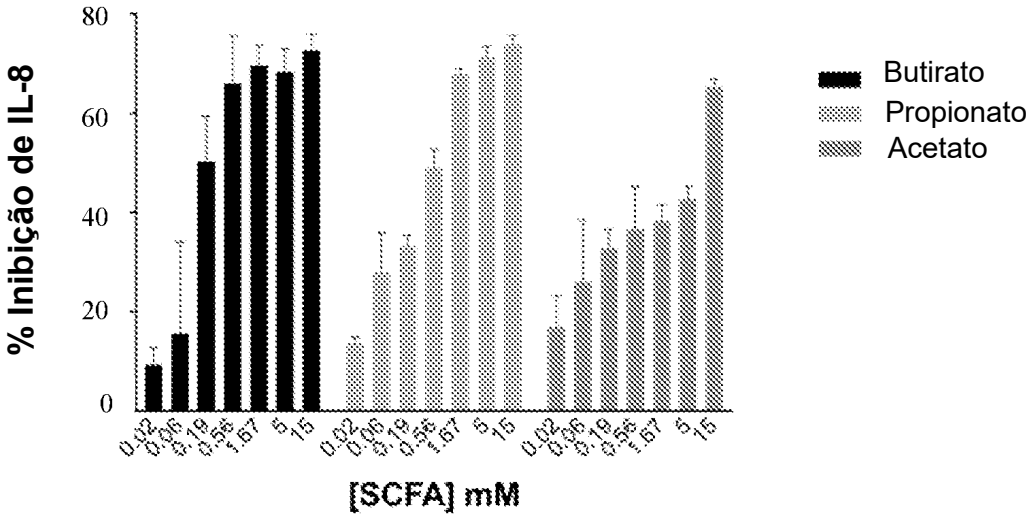



FIG. 14A

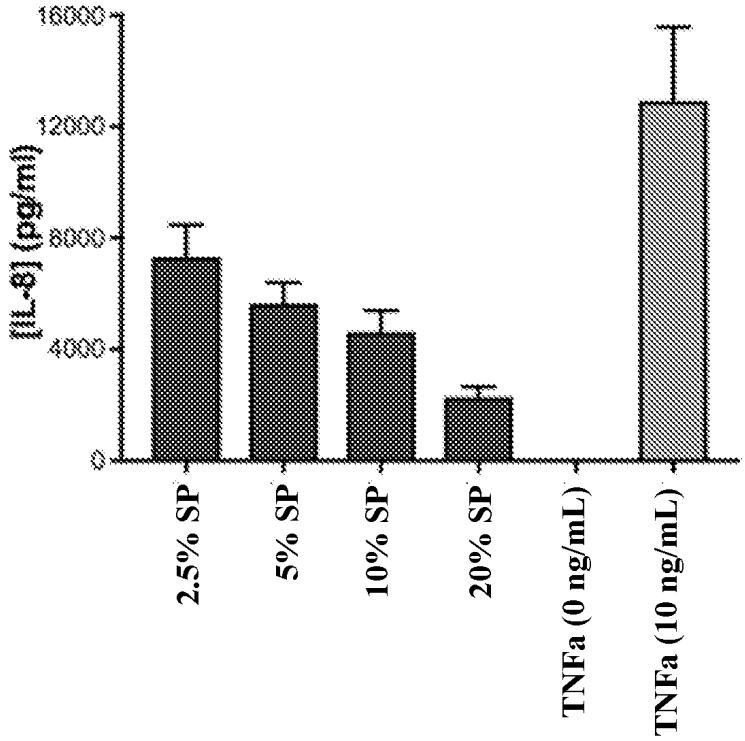



FIG. 14B

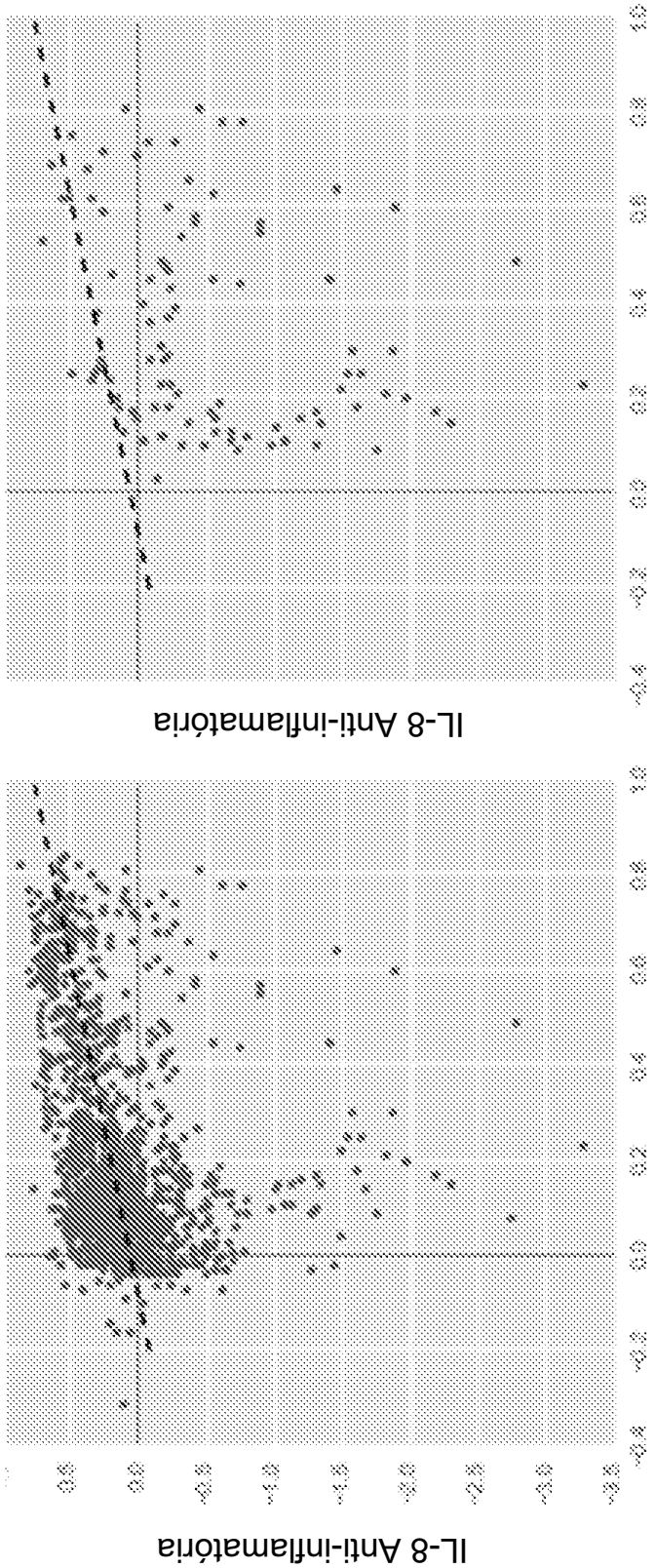



FIG. 15B

FIG. 15A

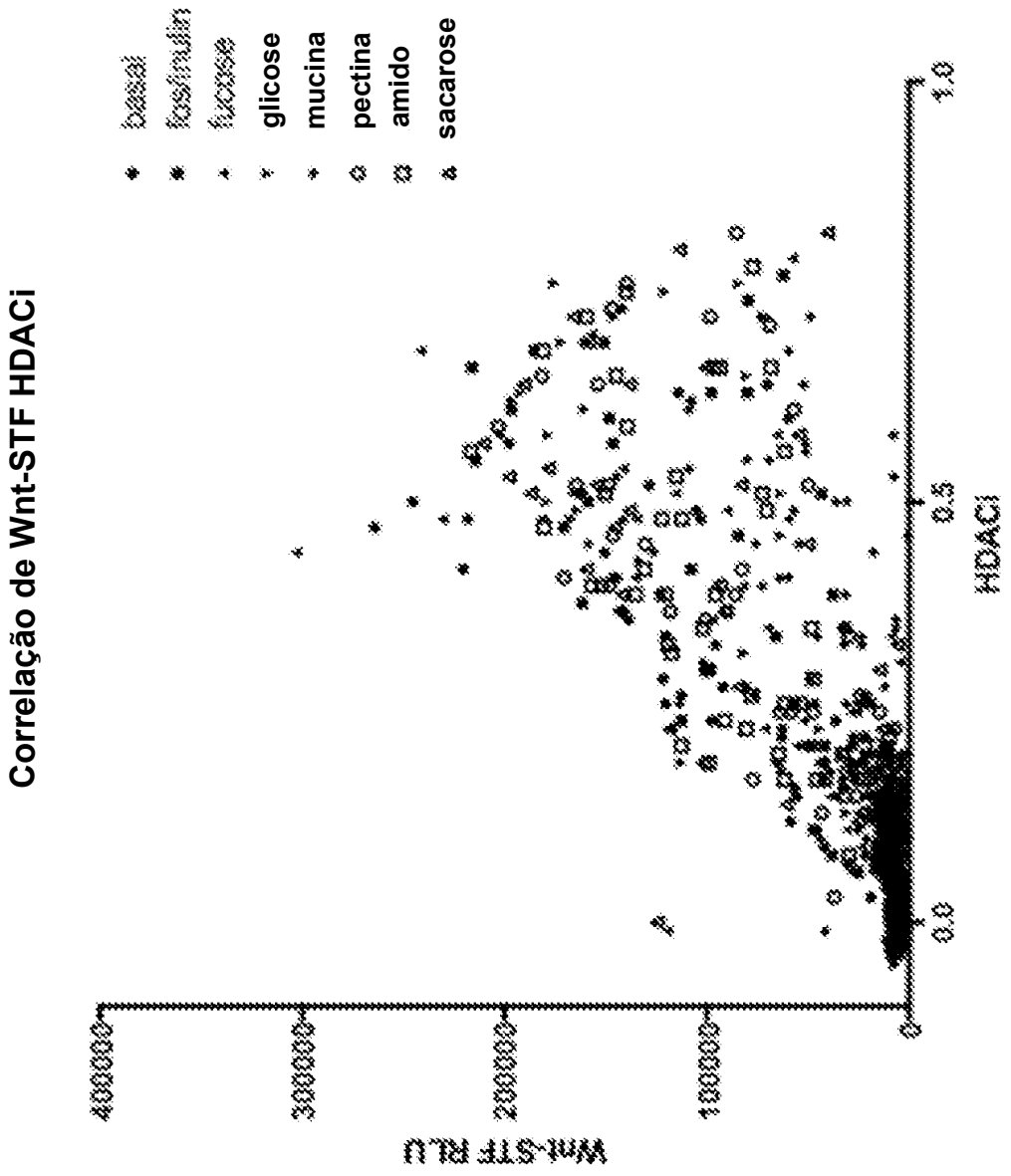

Correlação de Wnt-STF HDACi
basal
frutanos
fucose
glicose
mucina
pectina
amido
sacarose
Wnt-STF RLU
400000
300000
200000
100000
0
0.0
0.5
1.0
HDACi

FIG. 16

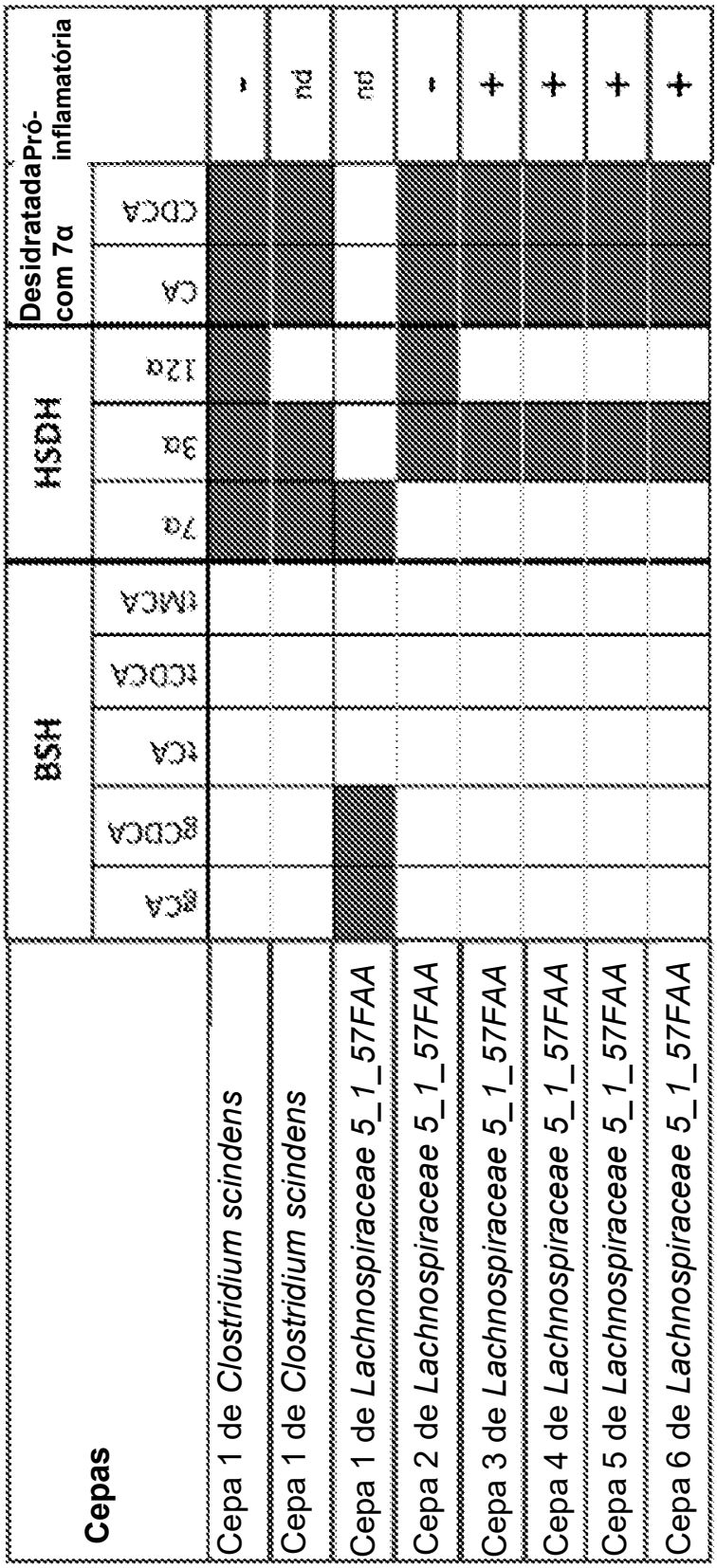

Cepas
BSH
βCA
βCDCA
tCA
tCDCA
tMCA
HSDH
7α
3α
12α
Desidratada com 7α
CA
CDCA
Pró-inflamatória
Cepa 1 de Clostridium scindens
-
Cepa 1 de Clostridium scindens
nd
Cepa 1 de Lachnospiraceae 5_1_57FAA
nd
Cepa 2 de Lachnospiraceae 5_1_57FAA
-
Cepa 3 de Lachnospiraceae 5_1_57FAA
+
Cepa 4 de Lachnospiraceae 5_1_57FAA
+
Cepa 5 de Lachnospiraceae 5_1_57FAA
+
Cepa 6 de Lachnospiraceae 5_1_57FAA
+

**FIG. 17**

**FIG. 18**

| | Ácido Acético (mM) | Ácido Propanoico (mM) | Ácido 2-metil-propanoico (mM) | Ácido butanoico (mM) | Ácido 3-metil-butanoico (mM) | Ácido pentanoico (mM) | Ácido 4-metil pentanoico (mM) | Ácido hexanoico (mM) | Ácido heptanoico (mM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Limite de Detecção (LOD)** | 0.158 | 0.104 | 0.046 | 0.048 | 0.011 | 0.011 | 0.025 | 0.008 | 0.024 |
| Meio_1 em branco | 10.481 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Alistipes finegoldii* | 11.292 | 2.211 | 0.179 | <LOD | 0.375 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Alistipes shahii* | 14.261 | 1.844 | 0.269 | <LOD | 0.710 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Anaerotruncus colihominis* | 12.732 | 0.253 | <LOD | 2.161 | 0.015 | 0.031 | 0.032 | <LOD | <LOD |
| *Cepa 1 de Bacteroides eggerthii* | 13.469 | 0.653 | 0.225 | <LOD | 0.690 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 2 de Bacteroides eggerthii* | 13.015 | 0.776 | 0.360 | <LOD | 1.202 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides sp 3_1_23* | 17.535 | 0.334 | 0.345 | <LOD | 0.941 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 1 de Bacteroides sp D20* | 13.822 | 6.936 | 0.395 | 0.048 | 0.989 | <LOD | 0.050 | <LOD | <LOD |
| *Cepa 2 de Bacteroides sp D20* | 14.535 | 9.222 | 0.577 | <LOD | 1.418 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides uniformis* | 15.267 | 2.394 | 0.329 | 0.066 | 0.798 | <LOD | 0.031 | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides faecis* | 18.542 | 0.598 | 0.254 | 0.050 | 0.682 | <LOD | 0.031 | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides sp.1_1_6* | 20.249 | 0.569 | 0.228 | <LOD | 0.717 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium asparagiforme* | 18.340 | 0.191 | 0.052 | 0.059 | 0.015 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium bartlettii* | 26.909 | 1.877 | <LOD | 0.048 | 0.011 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 1 de Clostridium glycolicum* | 53.528 | 2.397 | 2.862 | <LOD | 3.589 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium mayombei* | 61.576 | 2.703 | 2.916 | 0.072 | 3.796 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium aldenense* | 16.334 | <LOD | <LOD | 0.139 | <LOD | <LOD | 0.029 | <LOD | <LOD |
| *Clostridium bartlettii* | 40.492 | 2.119 | 2.007 | <LOD | 2.672 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium ghonii* | 21.147 | 1.436 | 2.710 | 0.087 | 0.936 | <LOD | 2.744 | <LOD | <LOD |
| *Clostridium* | 27.946 | <LOD | 0.479 | 4.187 | 0.873 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |

**FIG. 18 (cont.)**

| | Ácido Acético (mM) | Ácido Propanoico (mM) | Ácido 2-metil-propanoico (mM) | Ácido butanoico (mM) | Ácido 3-metil-butanoico (mM) | Ácido pentanoico (mM) | Ácido 4-metil pentanoico (mM) | Ácido hexanoico (mM) | Ácido heptanoico (mM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *subterminale* | | | | | | | | | |
| *Eubacterium desmolans* | 6.943 | 0.347 | 0.108 | 4.205 | 0.053 | <LOD | 0.098 | <LOD | <LOD |
| *Lachnospira pectinoschiza* | 11.434 | 0.139 | 0.065 | 0.075 | 0.026 | <LOD | 0.050 | <LOD | <LOD |
| *Odoribacter splanchnicus* | 14.587 | 2.389 | 1.211 | 5.794 | 2.135 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides sp. 3_1_23* | 19.916 | 0.443 | 0.283 | <LOD | 0.743 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 1 de Bacteroides salyersiae* | 18.542 | 0.474 | 0.303 | <LOD | 0.866 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium sp. NML_04A032* | 13.021 | 0.415 | 0.170 | 4.300 | 0.064 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium citroniae* | 17.688 | 0.453 | 0.051 | 0.060 | 0.013 | <LOD | 0.050 | <LOD | <LOD |
| *Cepa 1 de Flavonifractor plautii* | 23.187 | 2.101 | 1.513 | 4.272 | 0.746 | 0.089 | 1.702 | 0.007 | <LOD |
| *Cepa 1 de Ruminococcus gnavus* | 19.309 | 0.795 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 2 de Ruminococcus gnavus* | 17.929 | 1.011 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Clostridium cadavaris* | 25.147 | 0.538 | 0.473 | 5.641 | 0.274 | <LOD | 0.028 | <LOD | <LOD |
| *Peptostreptococcus anaerobius* | 17.445 | 0.361 | 1.439 | 0.330 | 0.231 | 0.018 | 2.652 | <LOD | <LOD |
| Meio 2 em branco | 0.481 | <LOD | <LOD | 0.079 | <LOD | <LOD | 0.057 | <LOD | <LOD |
| *Alistipes onderdonkii* | 1.103 | 0.226 | <LOD | 0.080 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Eubacterium tenue* | 14.125 | 0.957 | 0.264 | 0.084 | 0.234 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 3 de Bacteroides eggerthii* | 3.845 | 1.194 | 0.243 | 0.081 | 0.844 | <LOD | 0.040 | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides intestinalis* | 3.887 | 4.601 | 0.321 | 0.053 | 1.261 | <LOD | 0.032 | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides ovatus* | 4.186 | 0.415 | 0.166 | 0.054 | 0.631 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 2 de Bacteroides salyersiae* | 4.327 | 0.505 | 0.186 | 0.065 | 0.759 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides sp. 2_1_22* | 4.783 | 0.146 | 0.123 | <LOD | 0.567 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |

**FIG. 18 (cont.)**

| | Ácido Acético (mM) | Ácido Propanoico (mM) | Ácido 2-metil-propanoico (mM) | Ácido butanoico (mM) | Ácido 3-metil-butanoico (mM) | Ácido pentanoico (mM) | Ácido 4-metil pentanoico (mM) | Ácido hexanoico (mM) | Ácido heptanoico (mM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Bacteroides sp. 4_1_36* | 5.097 | 9.940 | 0.585 | 0.062 | 1.743 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides sp. D22* | 5.184 | <LOD | 0.148 | 0.052 | 0.587 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides stercoris* | 3.755 | 5.613 | 0.533 | 0.062 | 2.022 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Bacteroides uniformis* | 4.513 | 7.919 | 0.485 | <LOD | 1.602 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| *Cepa 2 de Clostridium glycolicum* | 26.135 | 2.261 | 2.864 | 0.071 | 4.504 | <LOD | 0.080 | <LOD | <LOD |
| *Cepa 1 de Clostridium sporogenes* | 17.177 | 1.490 | 3.758 | 0.987 | 2.542 | 0.127 | 2.991 | 0.011 | <LOD |
| *Cepa 2 de Clostridium sporogenes* | 23.755 | 5.924 | 5.077 | 1.840 | 1.640 | 0.137 | 3.718 | 0.012 | <LOD |
| *Cepa 2 de Flavonifractor plautii* | 8.375 | 0.380 | 0.070 | 5.737 | 0.038 | <LOD | 0.122 | <LOD | <LOD |
| *Cepa 3 de Ruminococcus gnavus* | 2.830 | <LOD | <LOD | 0.070 | <LOD | <LOD | 0.030 | <LOD | <LOD |
| *Peptostreptococcus stomatis* | 5.551 | 0.318 | 2.330 | 1.043 | 0.549 | 0.155 | 3.076 | <LOD | <LOD |

**FIG. 19**

| | Indol (mM) | 3-metilindol (mM) | Ácido indol-3-propanoico (mM) | Ácido indol-3-butírico (mM) | Ácido 3-Indoleacrílico (mM) | Triptamina (mM) | Ácido Indol-3-acético (mM) | Ácido Indol-3-glicoxílico (mM) | Ácido 2-picolínico (mM) | 5-hidroxitriptamina (mM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Limite de Detecção (LOD)** | 0.005 | 0.001 | 0.002 | 0.007 | 0.004 | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.006 | 0.27 |
| Meio_1 em branco | <LOD | 0.008 | <LOD | 0.007 | <LOD | 0.006 | <LOD | 0.011 | 0.012 | <LOD |
| *Alistipes finegoldii* | 0.016 | 0.027 | <LOD | <LOD | 0.005 | 0.005 | 0.001 | 0.015 | 0.022 | <LOD |
| *Alistipes shahii* | 0.015 | 0.023 | <LOD | 0.007 | 0.005 | 0.004 | <LOD | 0.010 | 0.016 | <LOD |
| *Anaerotruncus colihominis* | 0.038 | 0.015 | <LOD | 0.007 | 0.006 | 0.006 | <LOD | 0.020 | 0.013 | <LOD |
| *Cepa 1 de Bacteroides eggerthii* | 0.012 | 0.023 | <LOD | 0.007 | 0.006 | 0.004 | 0.001 | 0.014 | 0.015 | <LOD |
| *Cepa 2 de Bacteroides eggerthii* | 0.016 | 0.025 | <LOD | <LOD | 0.006 | 0.005 | 0.002 | 0.014 | 0.017 | <LOD |
| *Bacteroides sp 3_1_23* | 0.011 | 0.023 | 0.003 | 0.007 | 0.005 | 0.003 | 0.002 | 0.009 | 0.022 | <LOD |
| *Cepa 1 de Bacteroides sp D20* | 0.012 | 0.025 | <LOD | <LOD | 0.006 | 0.004 | 0.001 | 0.011 | 0.015 | <LOD |
| *Cepa 2 de Bacteroides sp D20* | 0.018 | 0.028 | <LOD | 0.007 | 0.006 | 0.004 | 0.002 | 0.013 | 0.018 | <LOD |
| *Bacteroides uniformis* | 0.012 | 0.022 | <LOD | <LOD | 0.006 | 0.004 | 0.001 | 0.012 | 0.014 | <LOD |
| *Bacteroides faecis* | 0.009 | 0.021 | <LOD | 0.007 | 0.005 | 0.004 | 0.001 | 0.012 | 0.018 | <LOD |
| *Bacteroides sp.1_1_6* | 0.008 | 0.025 | <LOD | <LOD | 0.005 | 0.005 | 0.002 | 0.012 | 0.020 | <LOD |
| *Clostridium asparagiforme* | 0.012 | 0.015 | <LOD | <LOD | 0.005 | 0.005 | 0.001 | 0.012 | 0.011 | <LOD |
| *Clostridium bartlettii* | 0.006 | 0.018 | <LOD | <LOD | 0.005 | 0.004 | <LOD | 0.011 | 0.011 | <LOD |
| *Cepa 1 de Clostridium glycolicum* | 0.006 | 0.001 | 0.003 | 0.008 | 0.005 | <LOD | 0.207 | 0.007 | 0.010 | <LOD |
| *Clostridium mayombei* | 0.007 | 0.001 | 0.003 | 0.007 | 0.005 | <LOD | 0.171 | 0.006 | 0.019 | <LOD |
| *Clostridium aldenense* | 0.048 | 0.019 | <LOD | <LOD | <LOD | 0.003 | <LOD | 0.011 | 0.015 | <LOD |
| *Clostridium* | 0.006 | 0.013 | 0.003 | 0.008 | <LOD | 0.003 | 0.163 | 0.010 | 0.010 | <LOD |

**FIG. 19 (cont.)**

| | Indol (mM) | 3-metilindol (mM) | Ácido indol-3-propanoico (mM) | Ácido indol-3-butírico (mM) | Ácido 3-Indoleacrílico (mM) | Triptamina (mM) | Ácido Indol-3-acético (mM) | Ácido Indol-3-glicoxílico (mM) | Ácido 2-picolínico (mM) | 5-hidroxitriptamina (mM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *bartlettii* | | | | | | | | | | |
| *Clostridium ghonii* | 0.052 | 0.005 | 0.003 | 0.007 | 0.005 | <LOD | 0.008 | 0.004 | 0.280 | <LOD |
| *Clostridium subterminale* | 0.008 | 0.025 | <LOD | 0.007 | 0.005 | 0.003 | 0.039 | 0.010 | 0.028 | <LOD |
| *Eubacterium desmolans* | 0.006 | 0.010 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.005 | 0.001 | 0.014 | 0.013 | <LOD |
| *Lachnospira pectinoschiza* | 0.006 | 0.009 | <LOD | <LOD | <LOD | 0.010 | 0.001 | 0.020 | 0.014 | <LOD |
| *Odoribacter splanchnicus* | 0.021 | 0.021 | <LOD | 0.008 | 0.007 | 0.003 | 0.003 | 0.007 | 0.010 | <LOD |
| *Bacteroides sp. 3_1_23* | 0.011 | 0.019 | <LOD | <LOD | 0.006 | 0.006 | 0.002 | 0.012 | 0.011 | <LOD |
| *Cepa 1 de Bacteroides salyersiae* | 0.009 | 0.020 | <LOD | <LOD | 0.006 | 0.004 | 0.002 | 0.011 | 0.013 | <LOD |
| *Clostridium sp. NML_04A032* | 0.008 | 0.011 | <LOD | 0.007 | <LOD | 0.005 | 0.001 | 0.011 | <LOD | <LOD |
| *Clostridium citroniae* | 0.029 | 0.016 | <LOD | <LOD | 0.005 | 0.004 | 0.001 | 0.013 | 0.011 | <LOD |
| *Cepa 1 de Flavonifractor plautii* | 0.058 | 0.005 | <LOD | 0.007 | 0.005 | <LOD | 0.001 | 0.005 | 0.166 | <LOD |
| *Cepa 1 de Ruminococcus gnavus* | 0.007 | 0.015 | <LOD | 0.007 | <LOD | 0.183 | <LOD | 0.011 | 0.012 | <LOD |
| *Cepa 2 de Ruminococcus gnavus* | 0.006 | 0.016 | 0.004 | 0.007 | <LOD | 0.173 | <LOD | 0.012 | 0.013 | <LOD |
| *Clostridium cadavaris* | 0.035 | 0.008 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.006 | 0.001 | 0.012 | 0.015 | <LOD |
| *Peptostreptococcus anaerobius* | <LOD | 0.003 | 0.171 | 0.008 | 0.014 | 0.003 | 0.001 | 0.007 | 0.386 | <LOD |
| Meio_2 em branco | <LOD | 0.013 | 0.005 | 0.007 | 0.006 | 0.013 | 0.001 | 0.034 | <LOD | <LOD |
| *Alistipes onderdonkii* | 0.009 | 0.017 | 0.004 | 0.008 | 0.008 | 0.016 | 0.002 | 0.043 | <LOD | <LOD |
| *Eubacterium tenue* | 0.028 | 0.008 | 0.006 | 0.008 | 0.008 | 0.011 | 0.002 | 0.040 | 0.008 | <LOD |
| *Cepa 3 de Bacteroides eggerthii* | 0.084 | 0.033 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.022 | 0.001 | 0.040 | 0.010 | <LOD |
| *Bacteroides* | 0.097 | 0.030 | <LOD | 0.008 | 0.004 | 0.012 | <LOD | 0.026 | 0.013 | <LOD |

Petição 870210032915, de 11/04/2021, pág. 226/280



**FIG. 19 (cont.)**

| | Indol (mM) | 3-metilindol (mM) | Ácido indol-3-propanoico (mM) | Ácido indol-3-butírico (mM) | Ácido 3-Indoleacrílico (mM) | Triptamina (mM) | Ácido Indol-3-acético (mM) | Ácido Indol-3-glicoxílico (mM) | Ácido 2-picolínico (mM) | 5-hidroxitriptamina (mM) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *intestinalis* | | | | | | | | | | |
| *Bacteroides ovatus* | 0.060 | 0.023 | 0.006 | 0.008 | 0.005 | 0.024 | 0.002 | 0.046 | 0.007 | 0.280 |
| *Cepa 2 de Bacteroides slayersiae* | 0.036 | 0.019 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.015 | <LOD | 0.026 | 0.014 | <LOD |
| *Bacteroides sp. 2_1_22* | 0.034 | 0.022 | 0.004 | 0.008 | 0.005 | 0.024 | 0.002 | 0.044 | 0.010 | <LOD |
| *Bacteroides sp. 4_1_36* | 0.060 | 0.048 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.021 | 0.001 | 0.035 | 0.007 | <LOD |
| *Bacteroides sp. D22* | 0.034 | 0.020 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.018 | <LOD | 0.031 | 0.014 | <LOD |
| *Bacteroides stercoris* | 0.096 | 0.046 | <LOD | 0.008 | 0.005 | 0.021 | 0.002 | 0.033 | 0.019 | 0.326 |
| *Bacteroides uniformis* | 0.051 | 0.038 | <LOD | 0.007 | 0.004 | 0.010 | 0.001 | 0.016 | 0.014 | <LOD |
| *Cepa 2 de Clostridium glycolicum* | <LOD | 0.002 | <LOD | 0.008 | 0.006 | 0.005 | 0.370 | 0.010 | 0.015 | <LOD |
| *Cepa 1 de Clostridium sporogenes* | 0.019 | 0.003 | 0.665 | 0.008 | 0.026 | 0.178 | 0.001 | 0.007 | 0.478 | <LOD |
| *Cepa 2 de Clostridium sporogenes* | 0.057 | 0.003 | 0.191 | 0.008 | 0.012 | 0.337 | 0.003 | 0.009 | 0.500 | <LOD |
| *Cepa 2 de Flavonifractor plautti* | 1.340 | 0.013 | <LOD | <LOD | 0.005 | 0.013 | 0.001 | 0.031 | <LOD | <LOD |
| *Cepa 3 de Ruminococcus gnavus* | <LOD | 0.010 | <LOD | 0.007 | 0.005 | 0.355 | 0.002 | 0.030 | <LOD | <LOD |
| *Peptostreptococcus stomatis* | 0.009 | 0.010 | 0.233 | 0.008 | 0.031 | 0.018 | 0.002 | 0.045 | 0.404 | <LOD |

**FIG. 20A**

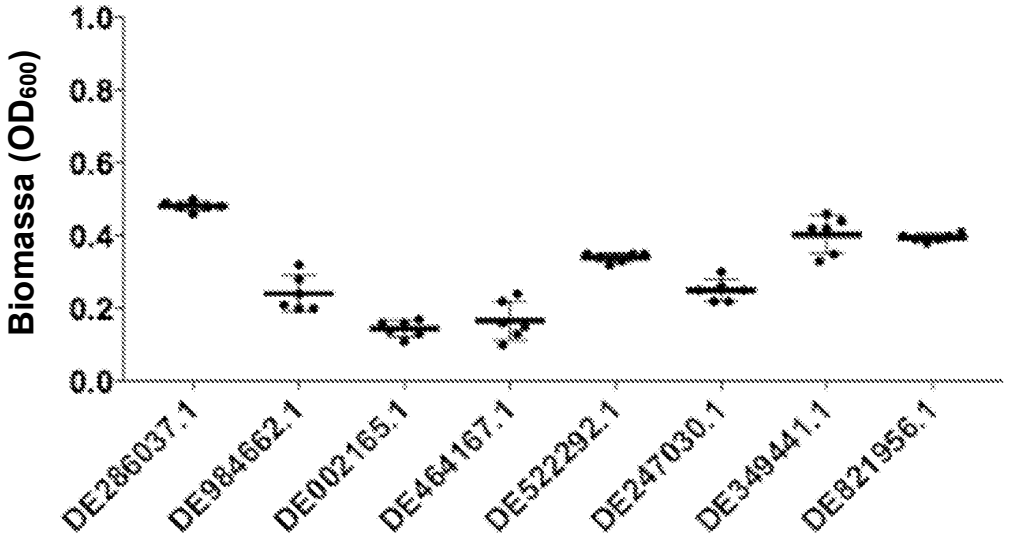



**FIG. 20B**

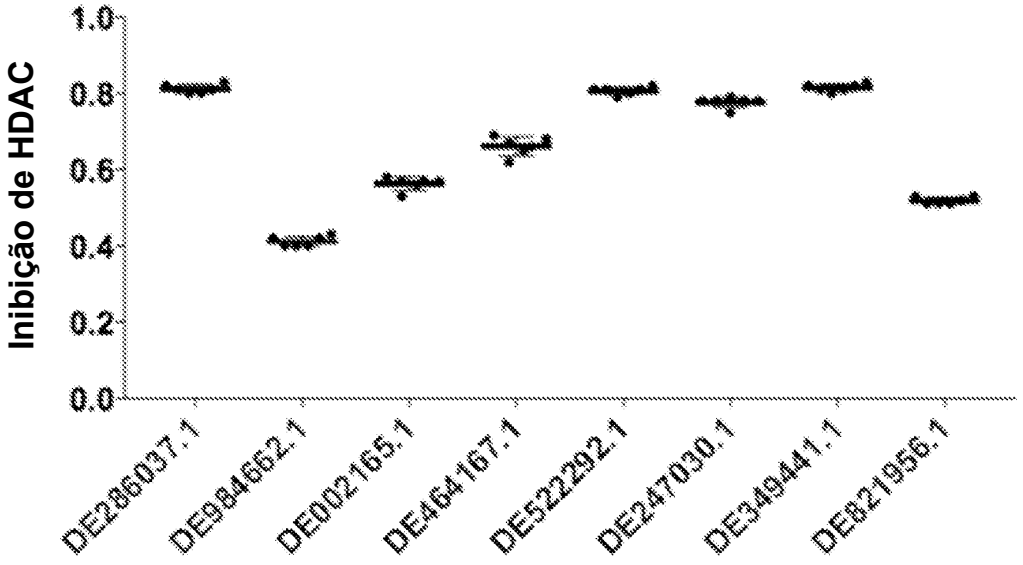


**FIG. 20C**

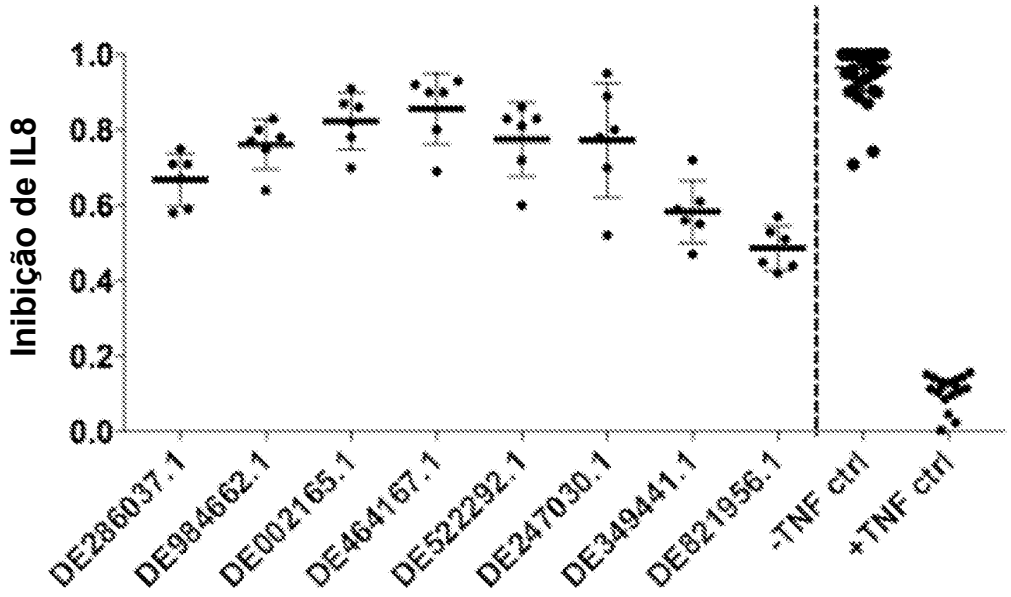



**FIG. 20D**

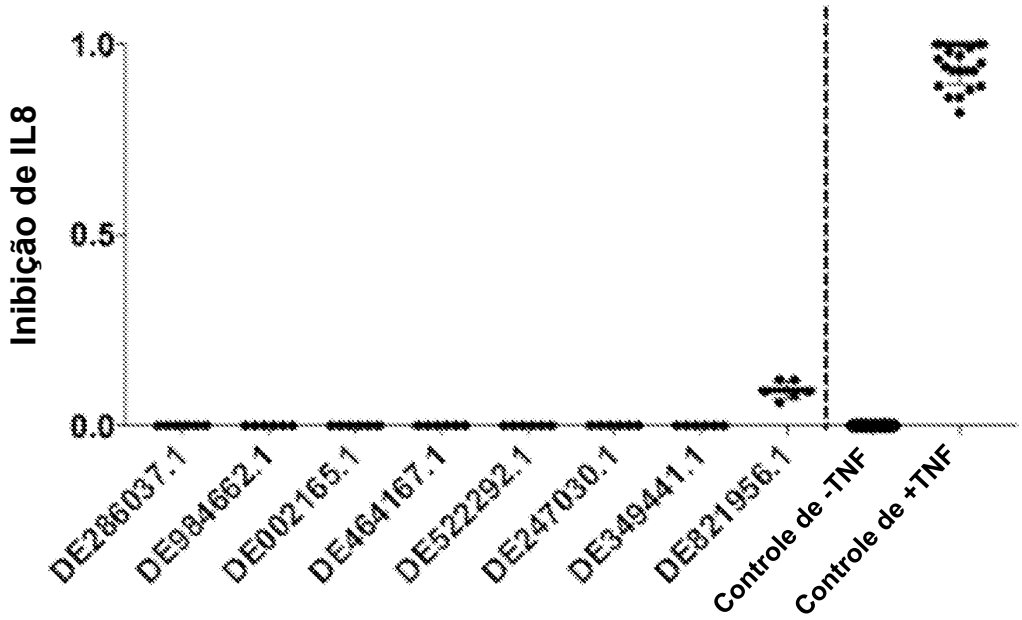


**FIG. 20E**

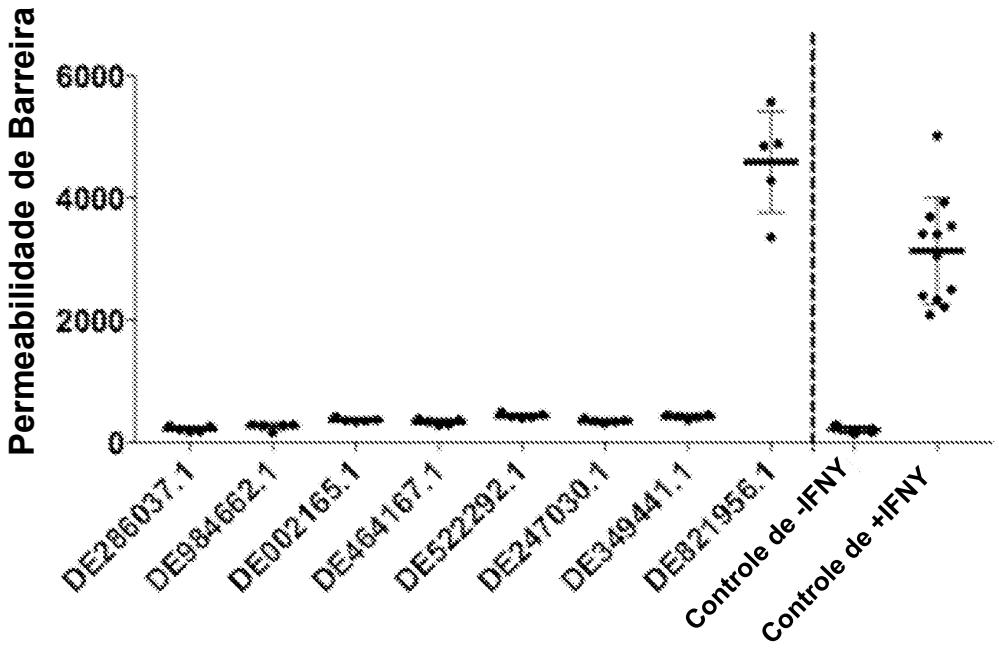



**FIG. 20F**

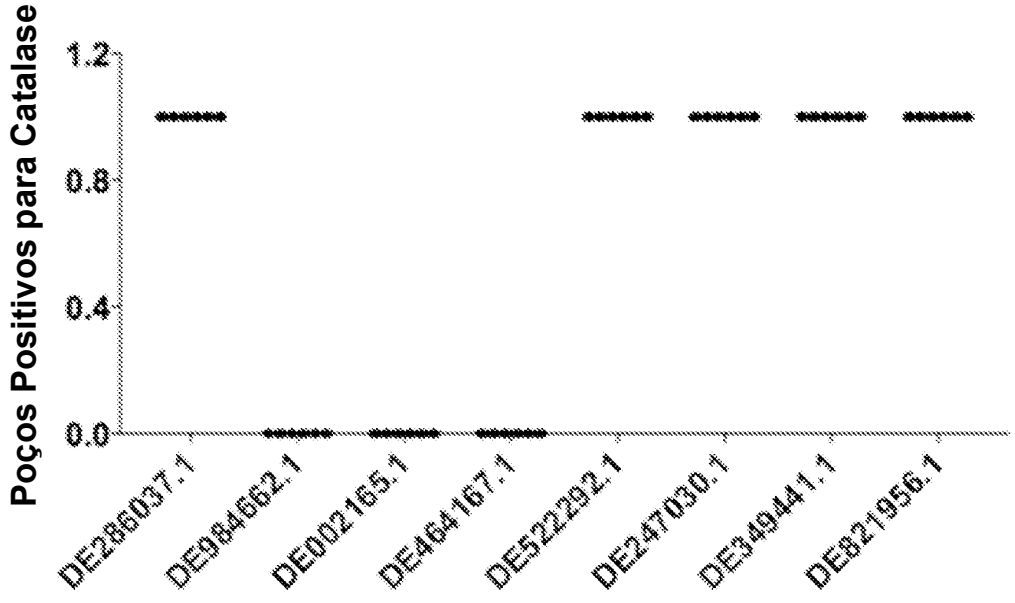


**FIG. 20G**

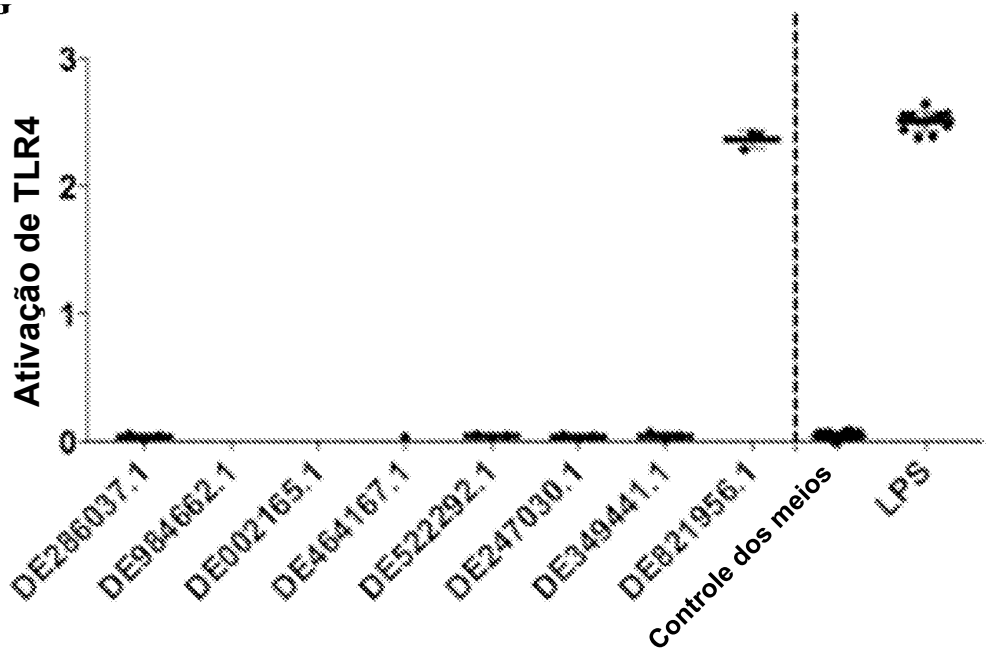



**FIG. 20H**

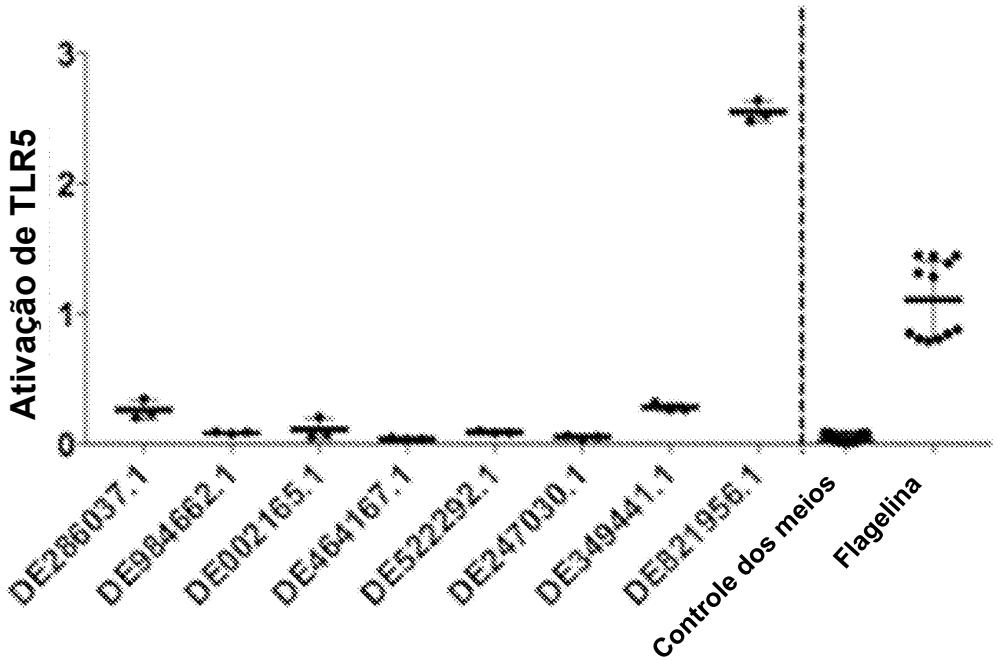


**FIG. 20I**

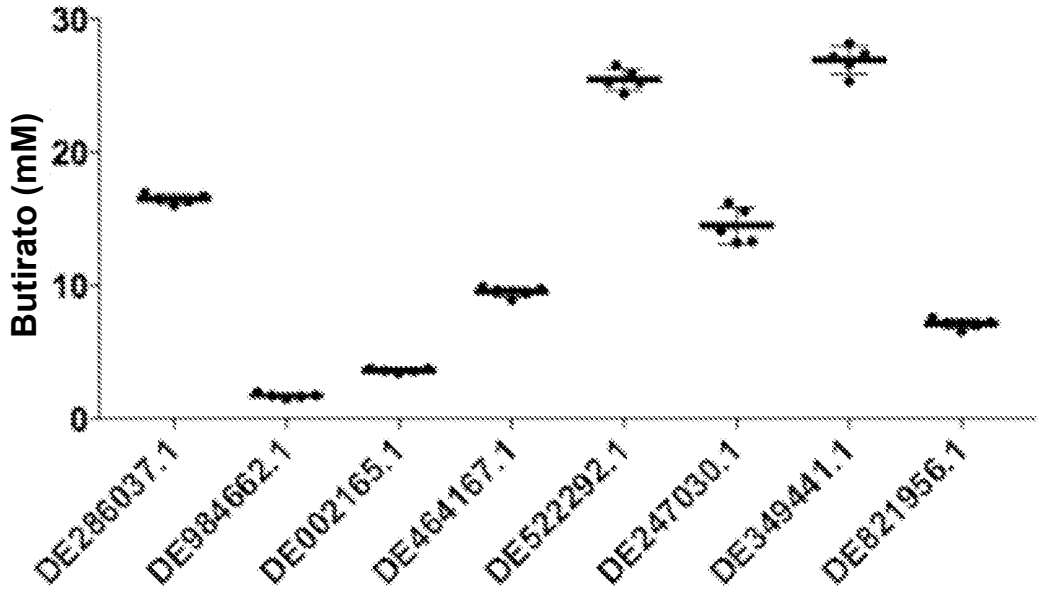



**FIG. 20J**

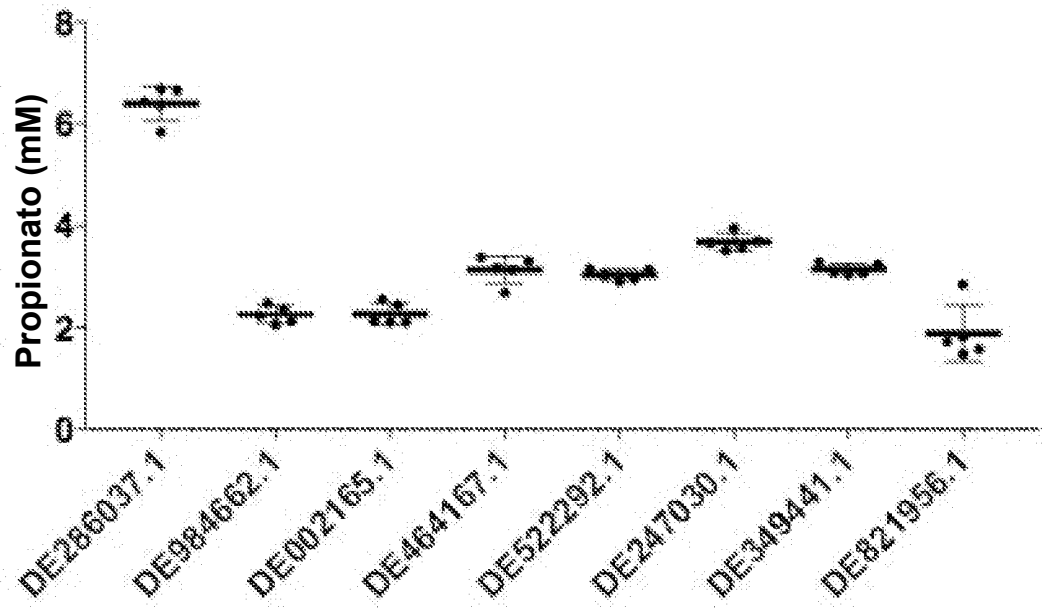


**FIG. 20K**

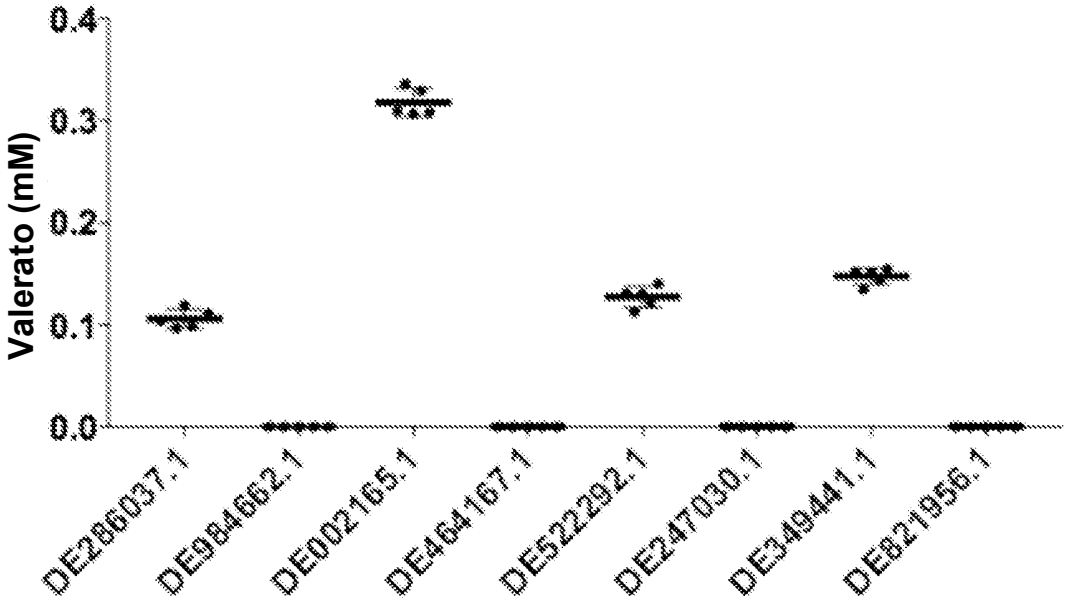
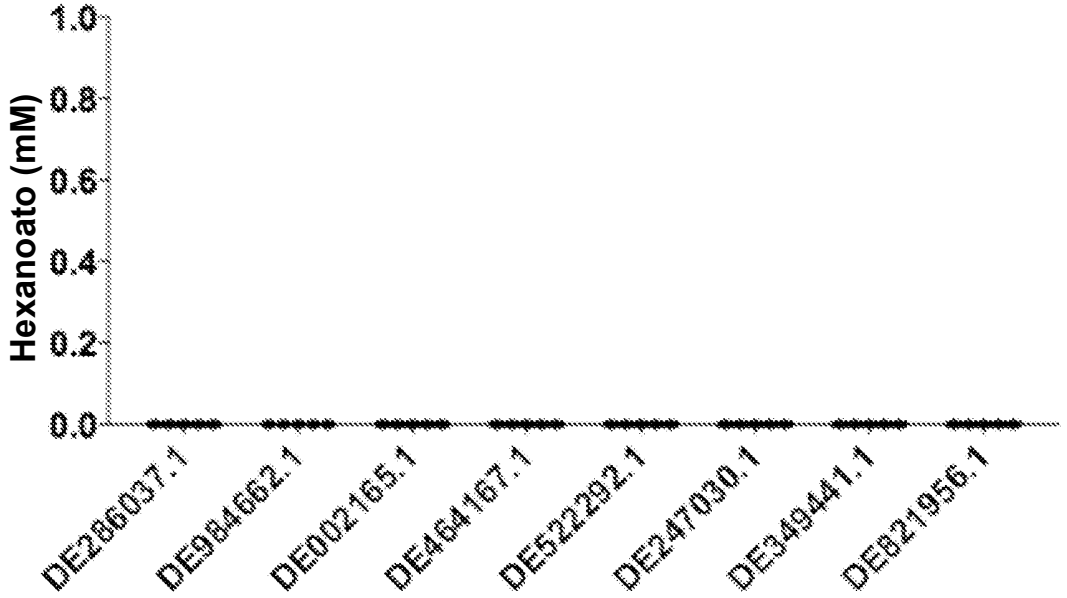



**FIG. 20L**



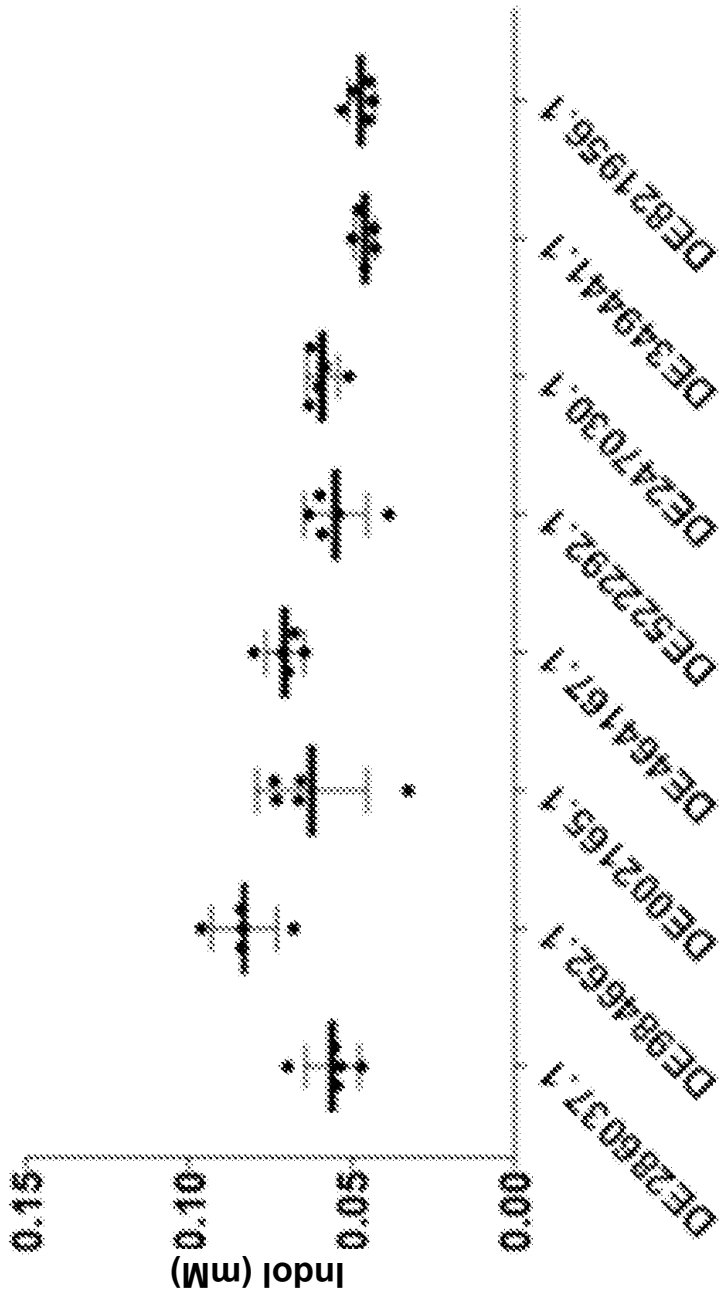

Indol (mM)
0.15
0.10
0.05
0.00
DE23660037.1
DE98246621.1
DE00216651.1
DE46416721.1
DE52272921.1
DE24170301.1
DE34944411.1
DE62195561.1

FIG. 20M

FIG. 20N

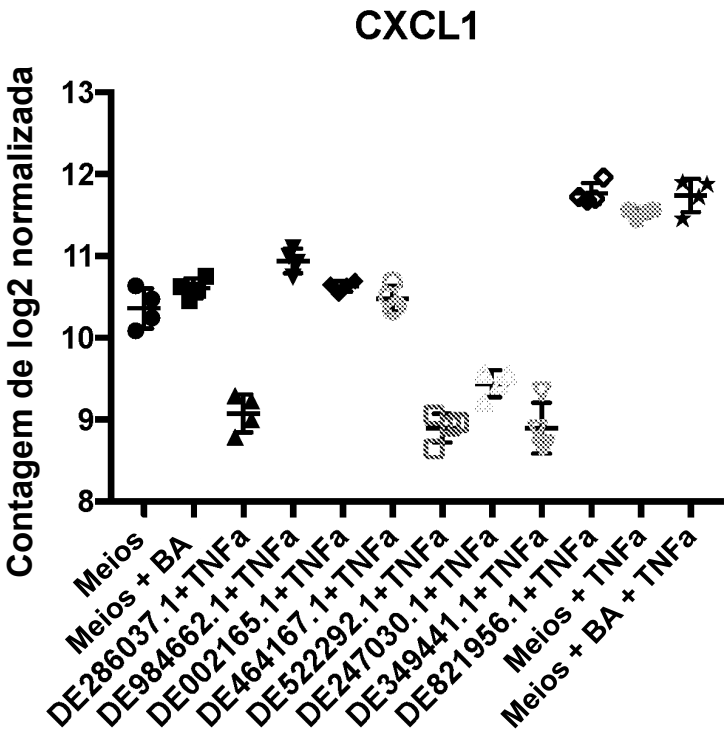



FIG. 20O

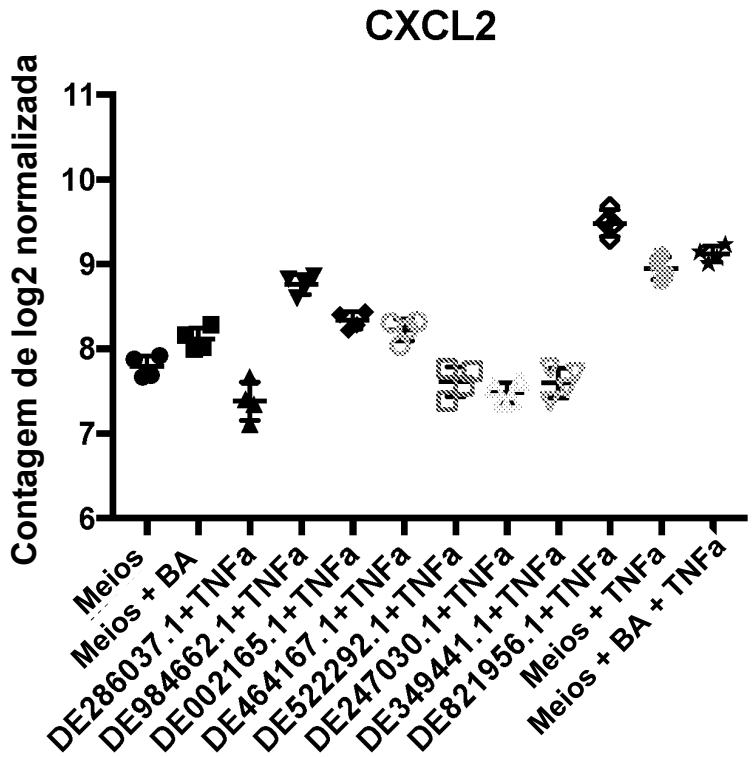


**FIG. 20P**

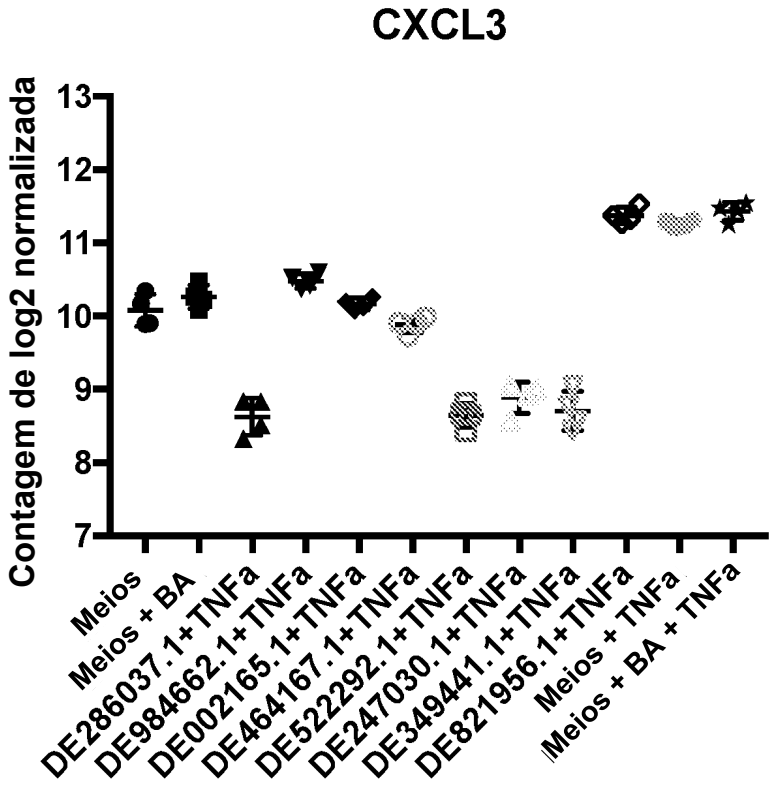



**FIG. 20Q**

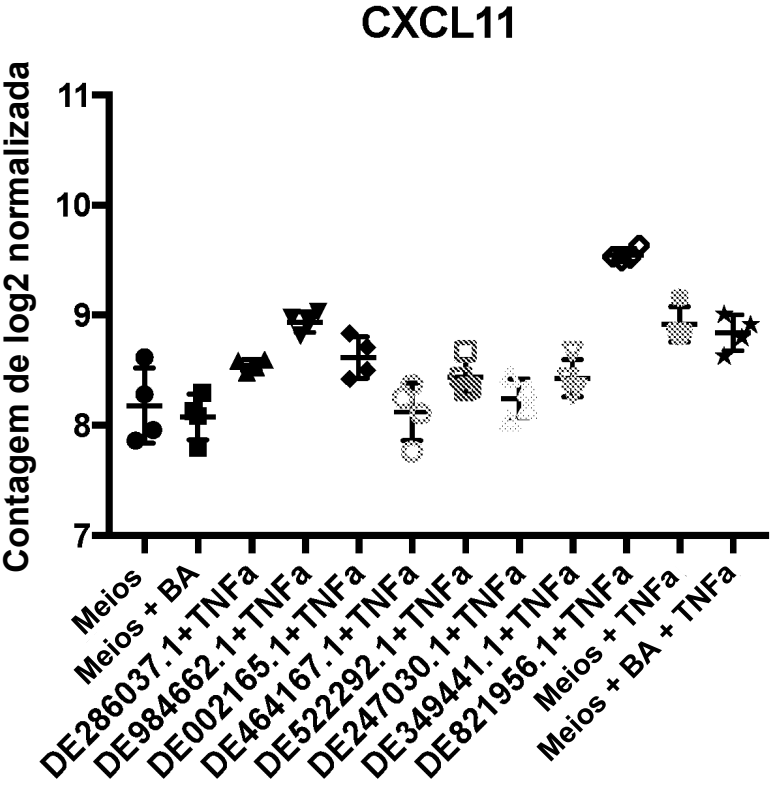


FIG. 20R

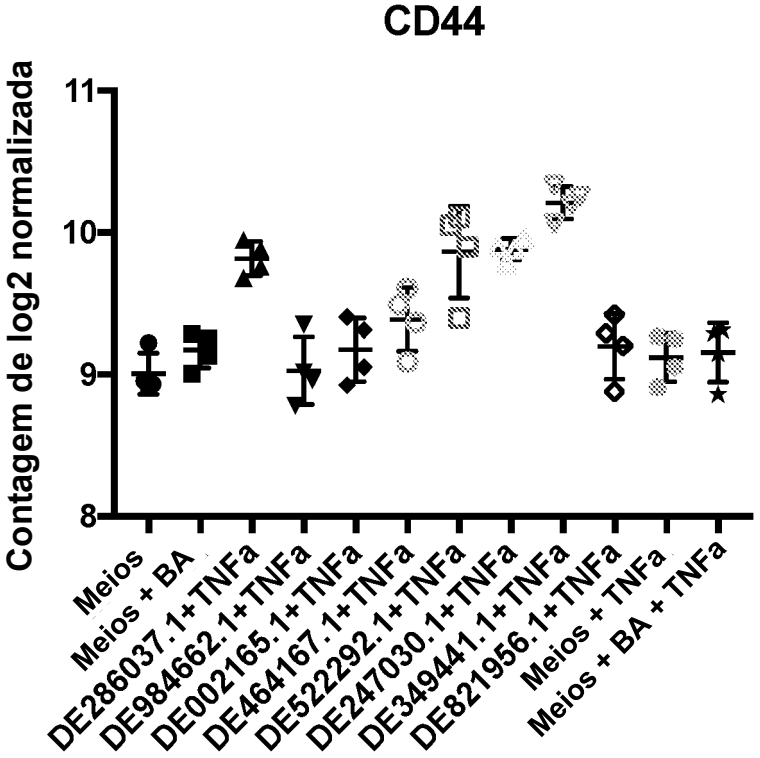



FIG. 20S

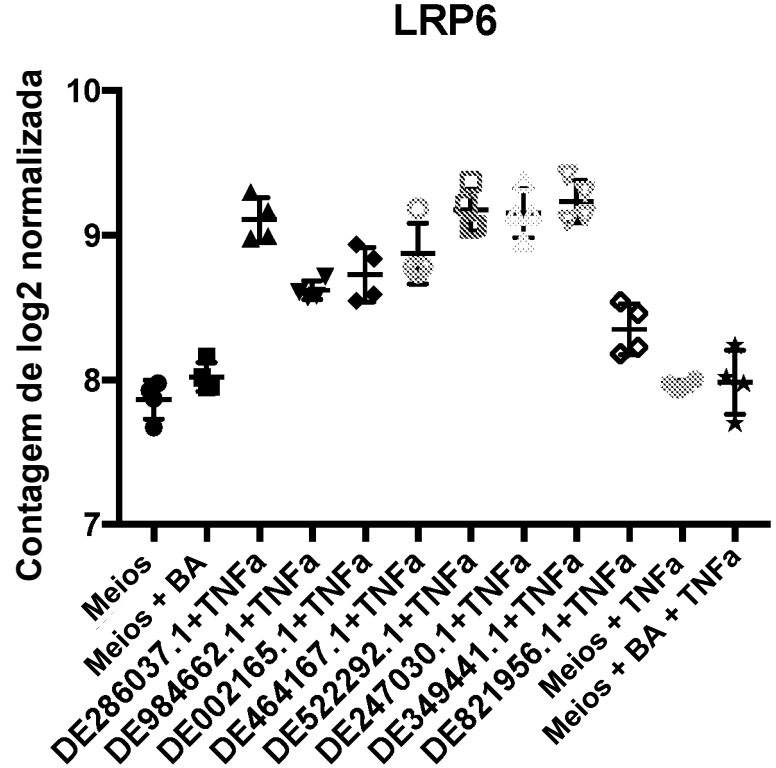


**FIG. 20T**

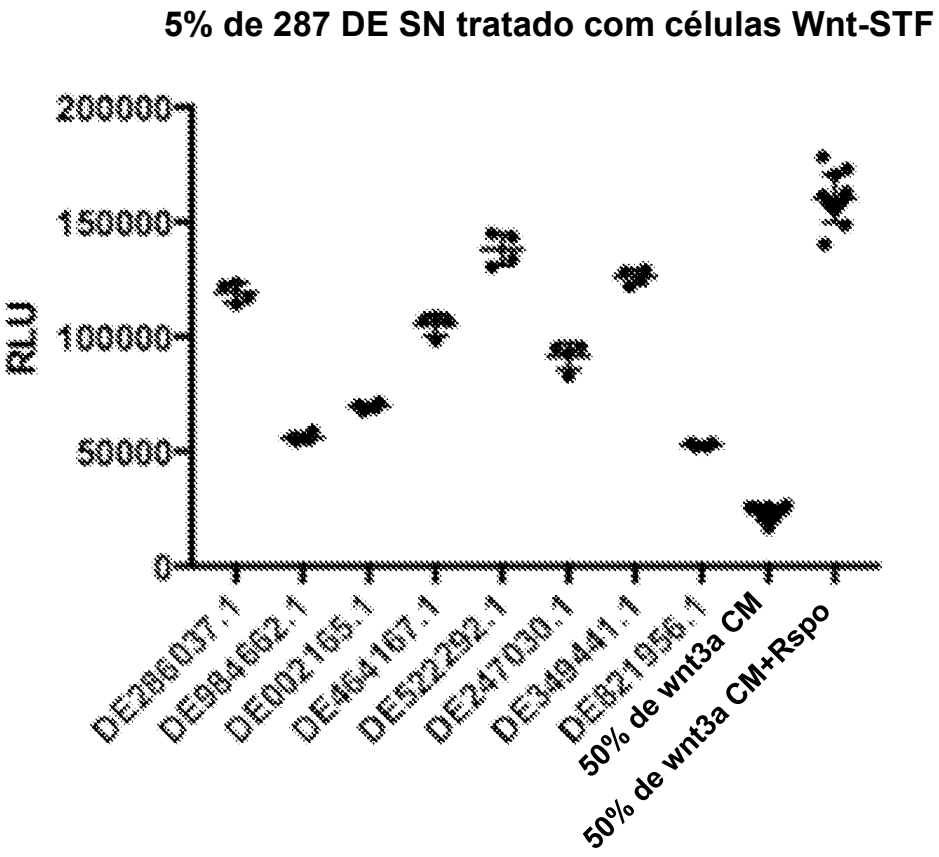

5% de 287 DE SN tratado com células Wnt-STF
RLU
200000
150000
100000
50000
0
DE2866037.1
DE6894662.1
DE6021655.1
DE4641671.1
DE5222352.1
DE2470501.1
DE3494411.1
DE6219561.1
50% de wnt3a CM
50% de wnt3a CM+Rspo

**FIG. 21A**

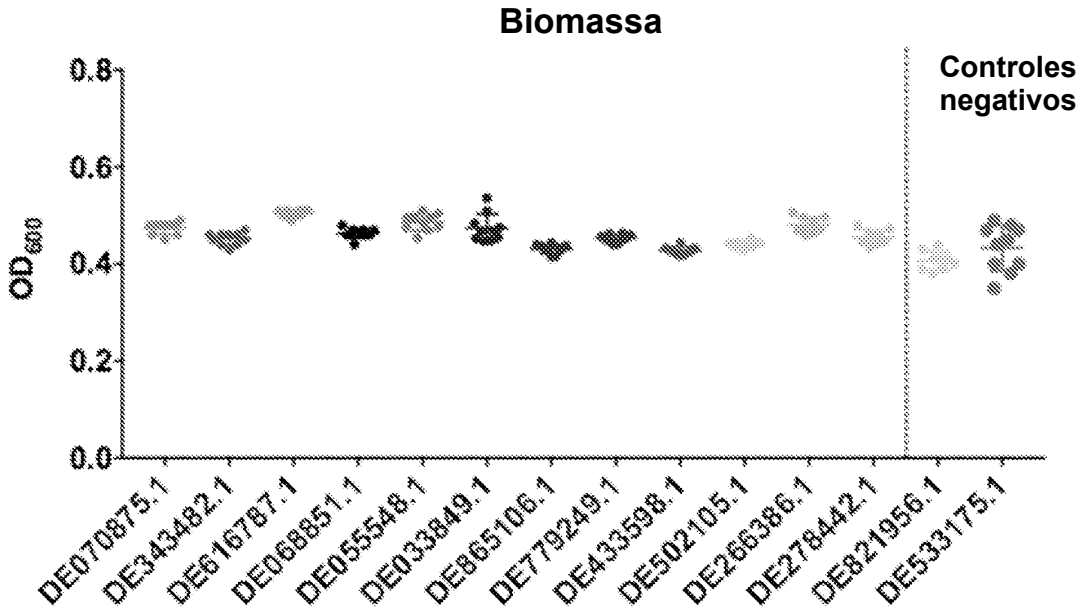



**FIG. 21B**

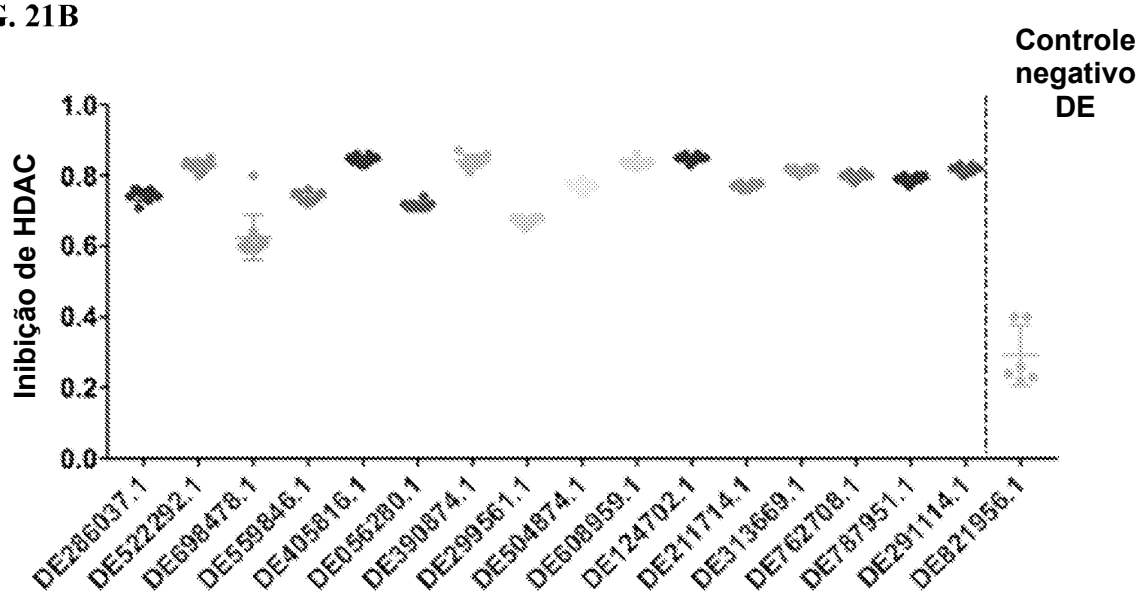


**FIG. 21C**

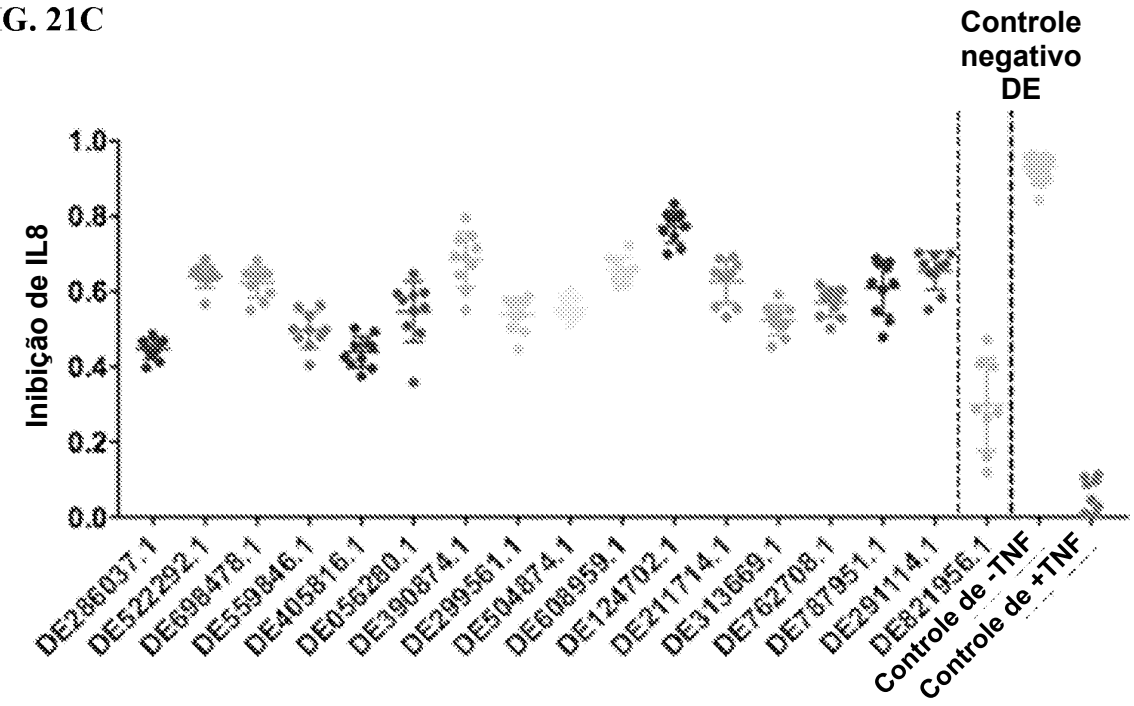



**FIG. 21D**

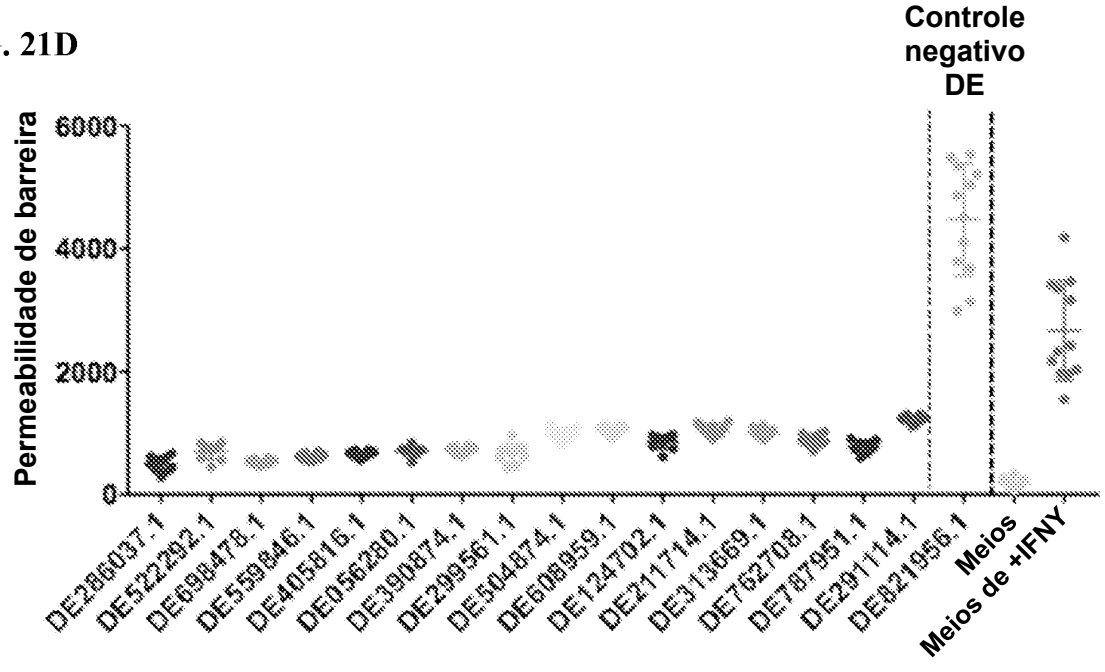


**FIG. 21E**

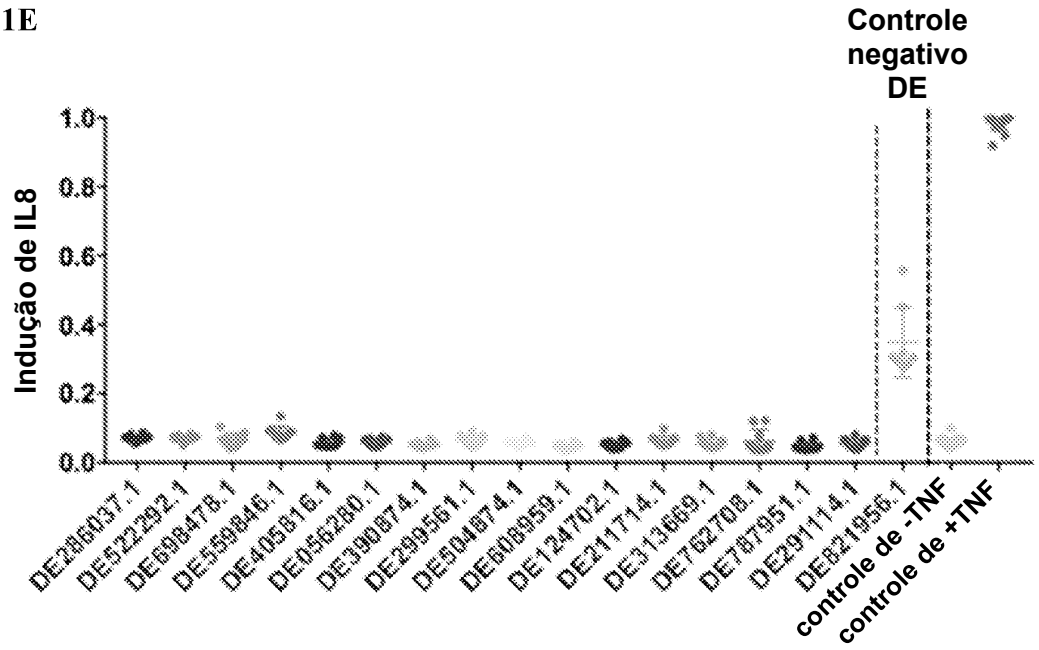

Controle negativo DE
Indução de IL8
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
DE286037.1
DE522292.1
DE698478.1
DE559846.1
DE405616.1
DE056280.1
DE390874.1
DE299561.1
DE504674.1
DE608959.1
DE124702.1
DE211714.1
DE313669.1
DE762708.1
DE787951.1
DE291114.1
DE821956.1
controle de -TNF
controle de +TNF

**FIG. 21F**

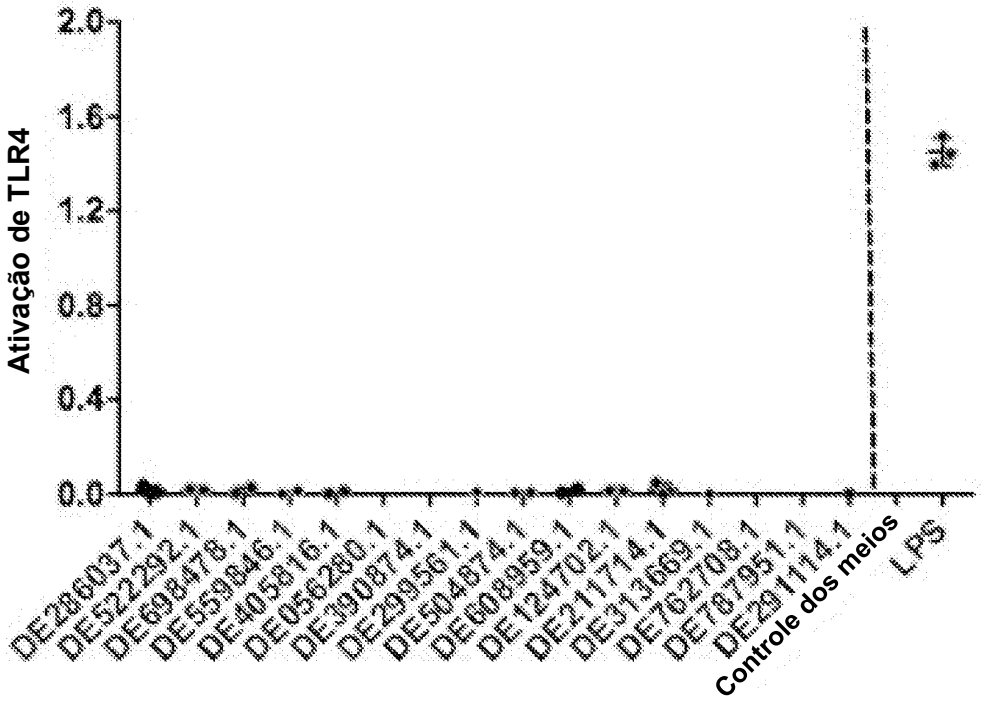



**FIG. 21G**

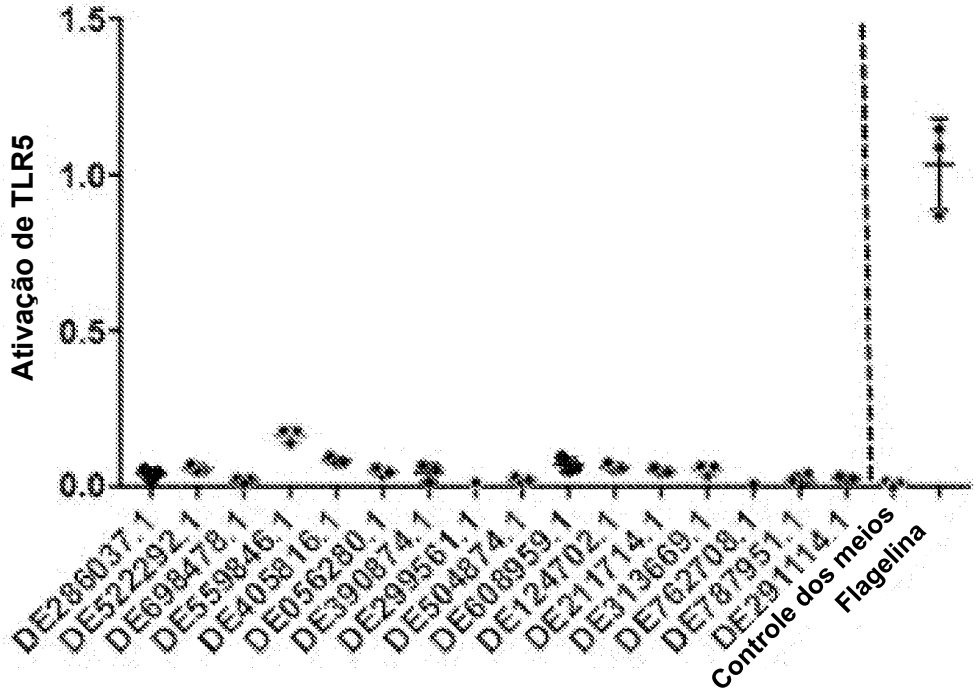


**FIG. 21H**

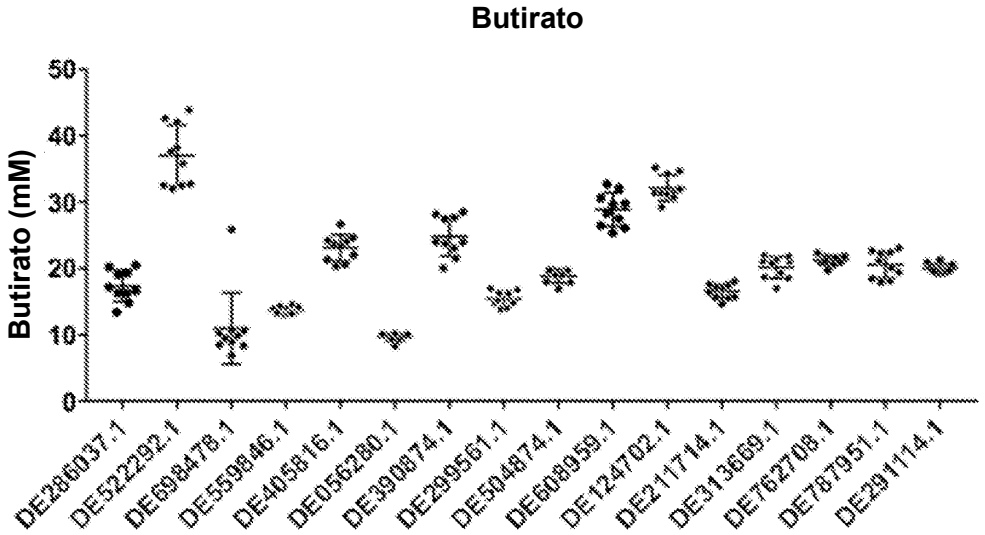



**FIG. 21I**

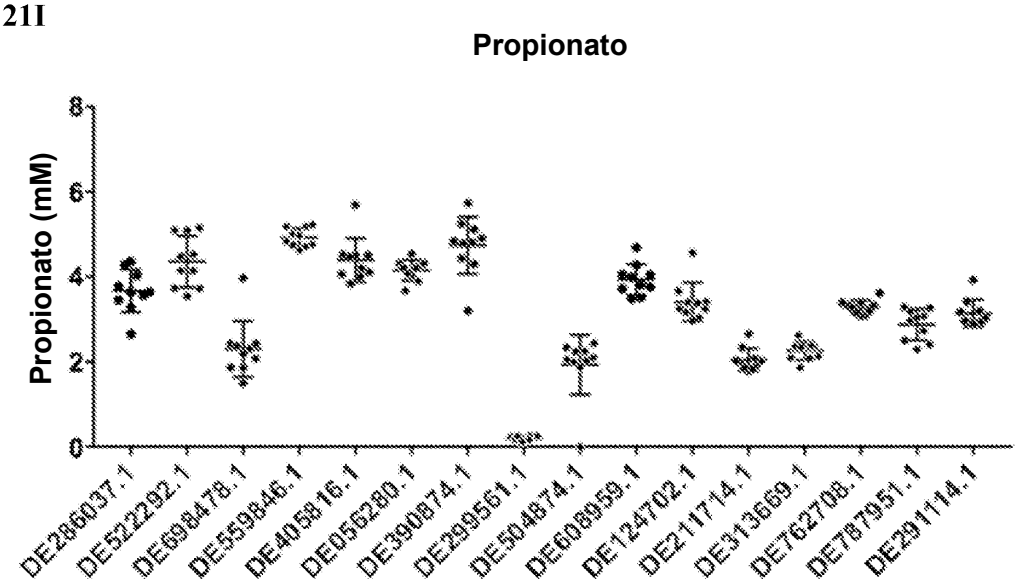


**FIG. 21J**

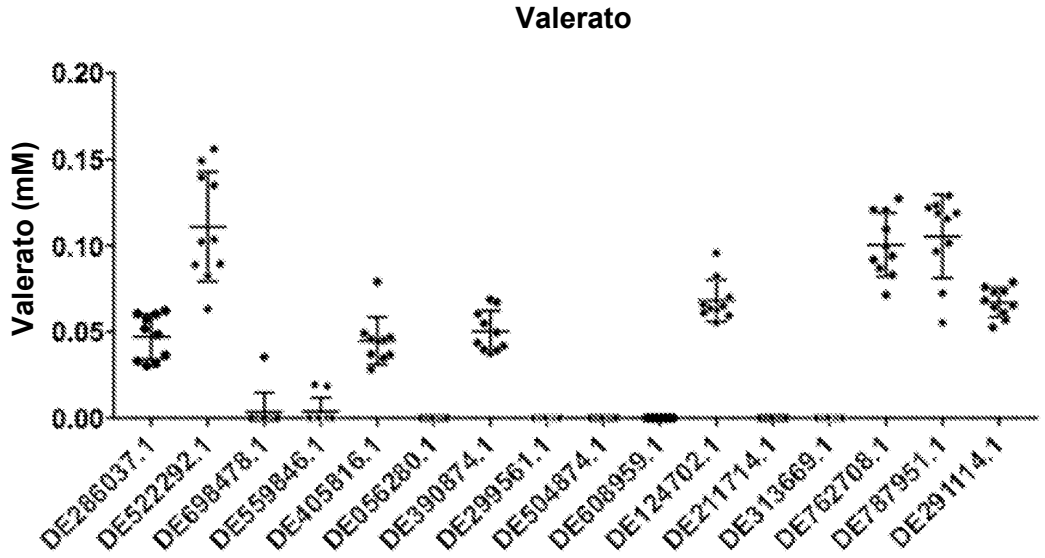



**FIG. 21K**

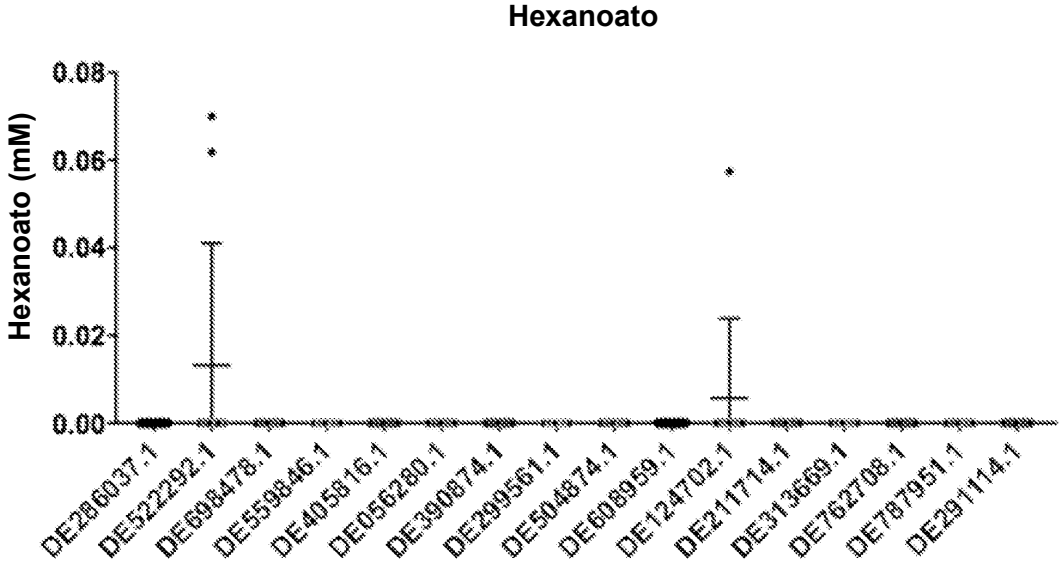


**FIG. 21L**

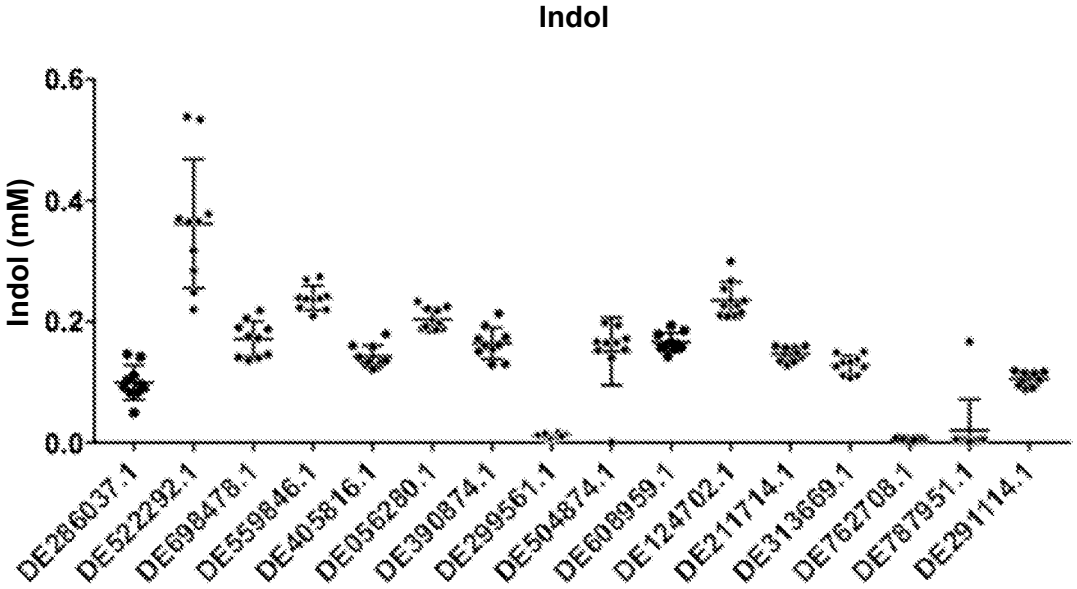



**FIG. 21M**

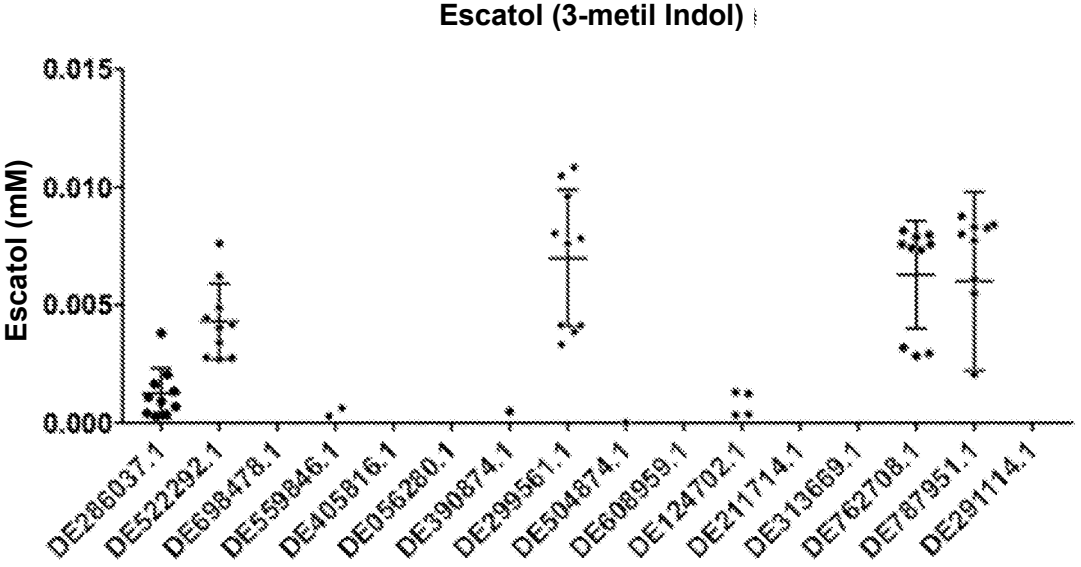


**FIG. 21N**

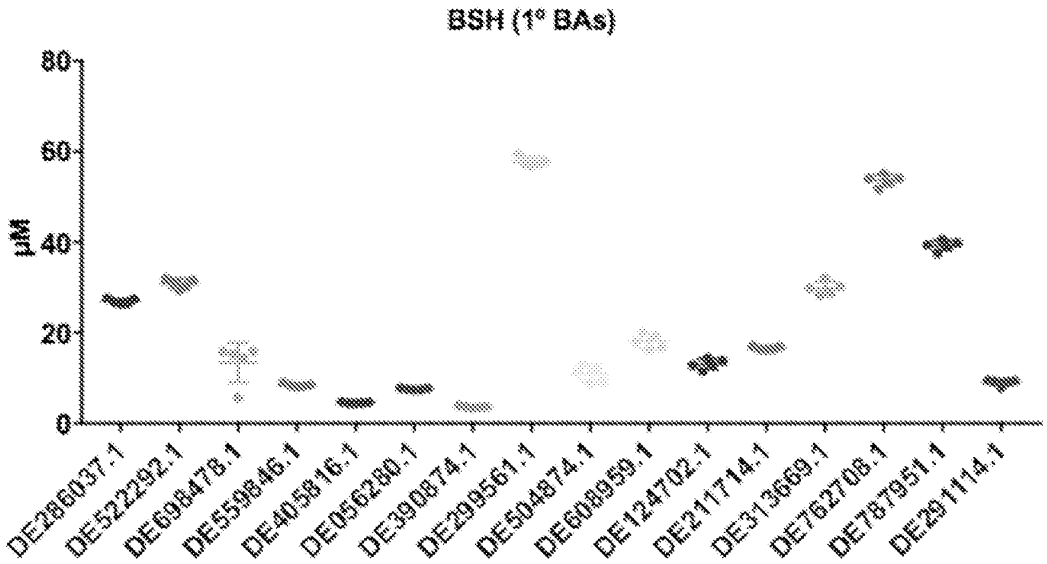



**FIG. 21O**

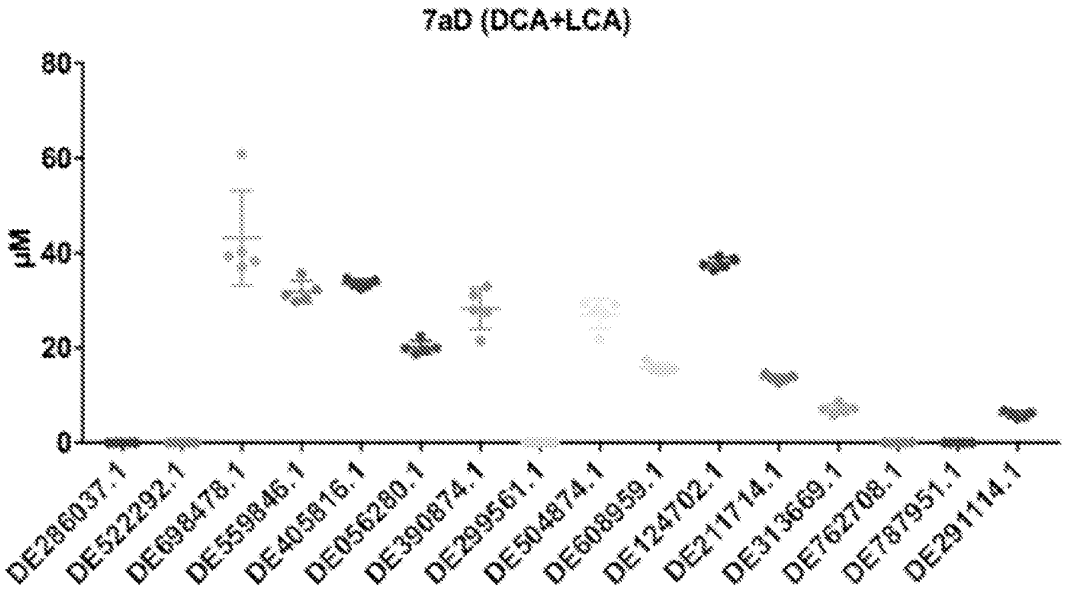


**FIG. 21P**

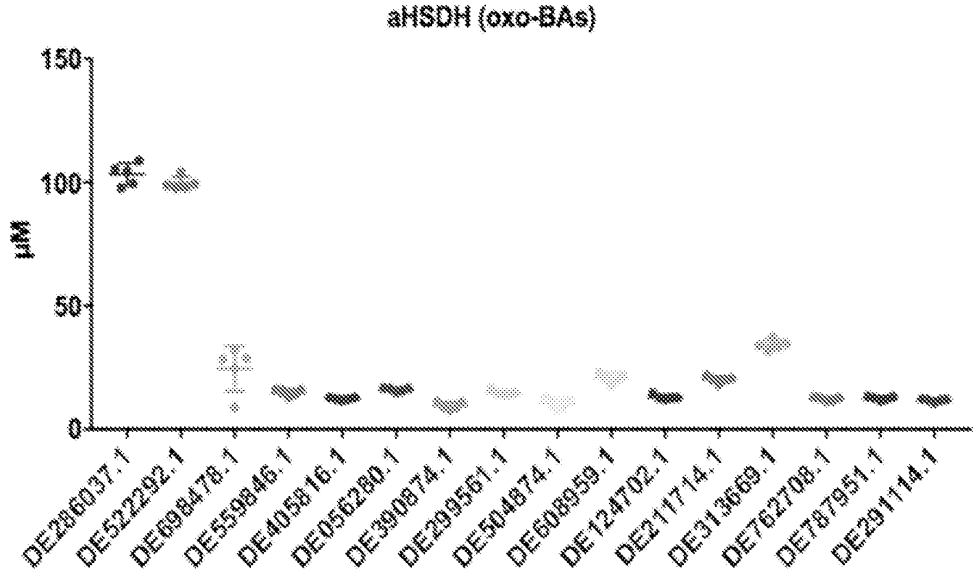



**FIG. 21Q**

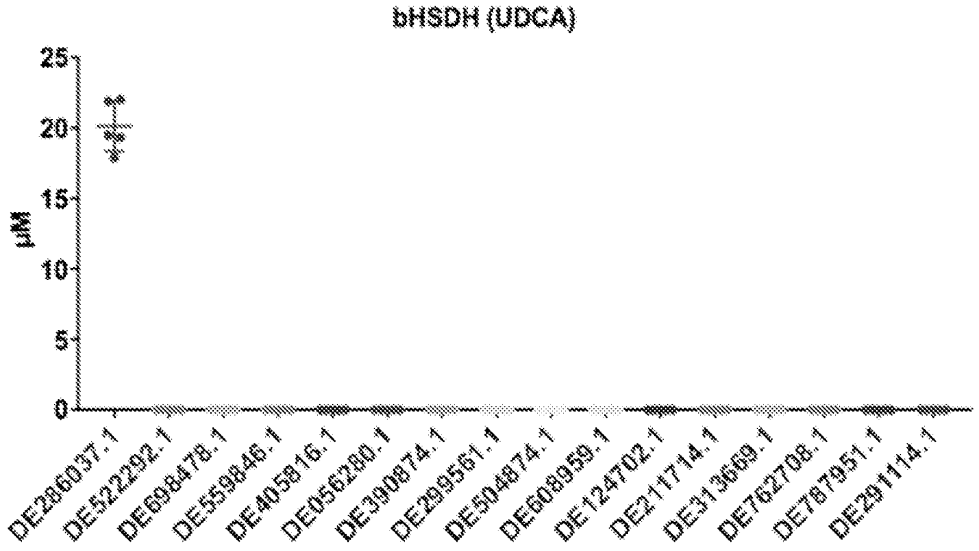


**FIG. 22A**

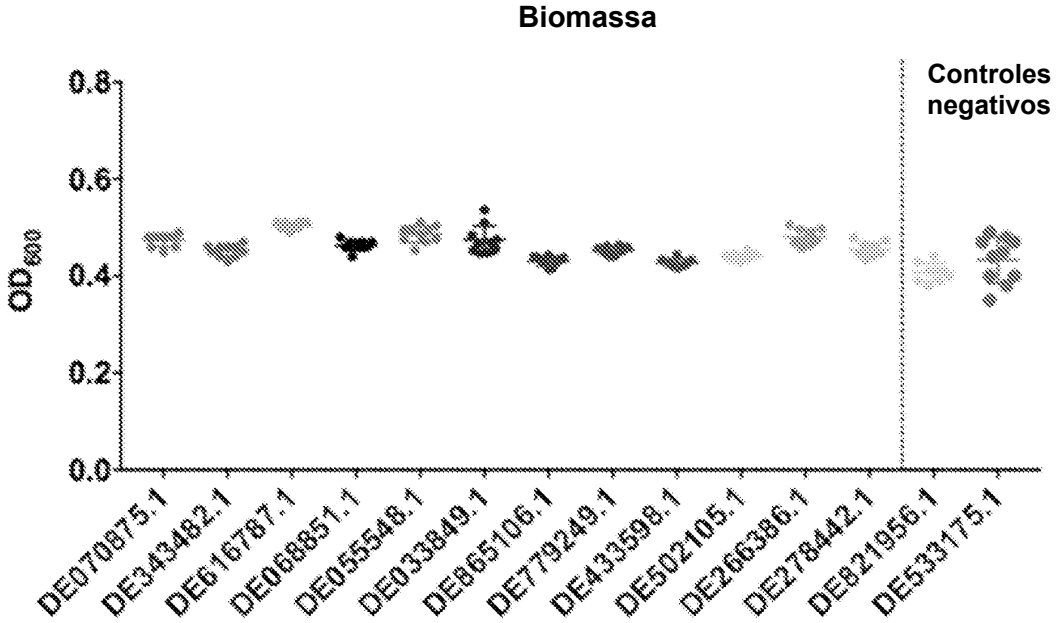

Biomassa
Controles negativos
$OD_{600}$
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
DE070875.1
DE343482.1
DE616767.1
DE068851.1
DE055548.1
DE033849.1
DE865106.1
DE779249.1
DE433598.1
DE502105.1
DE266386.1
DE278442.1
DE821956.1
DE533175.1

**FIG. 22B**

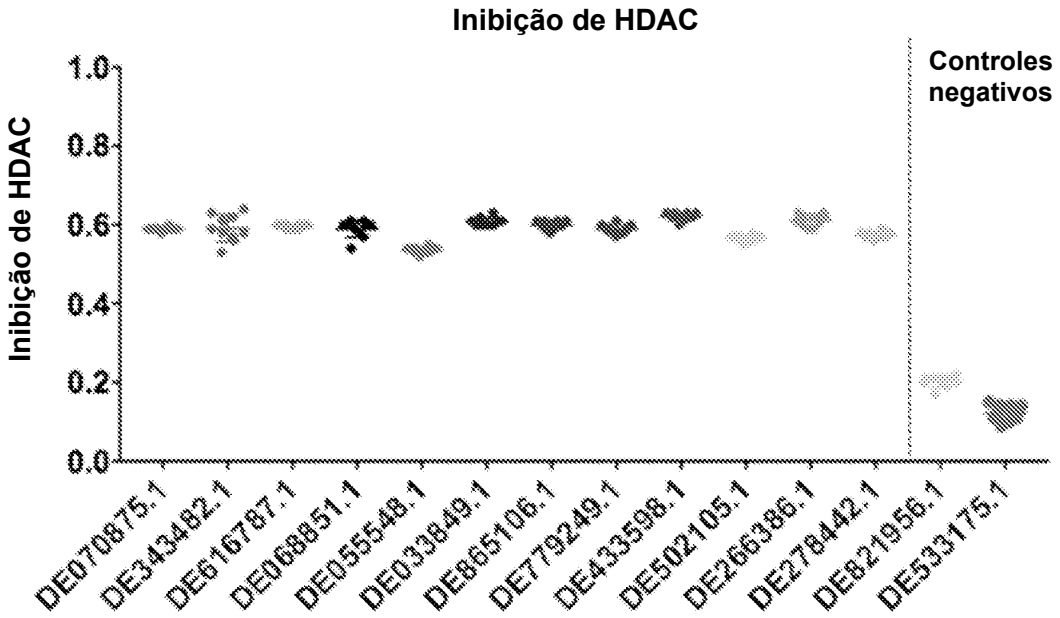



**FIG. 22C**

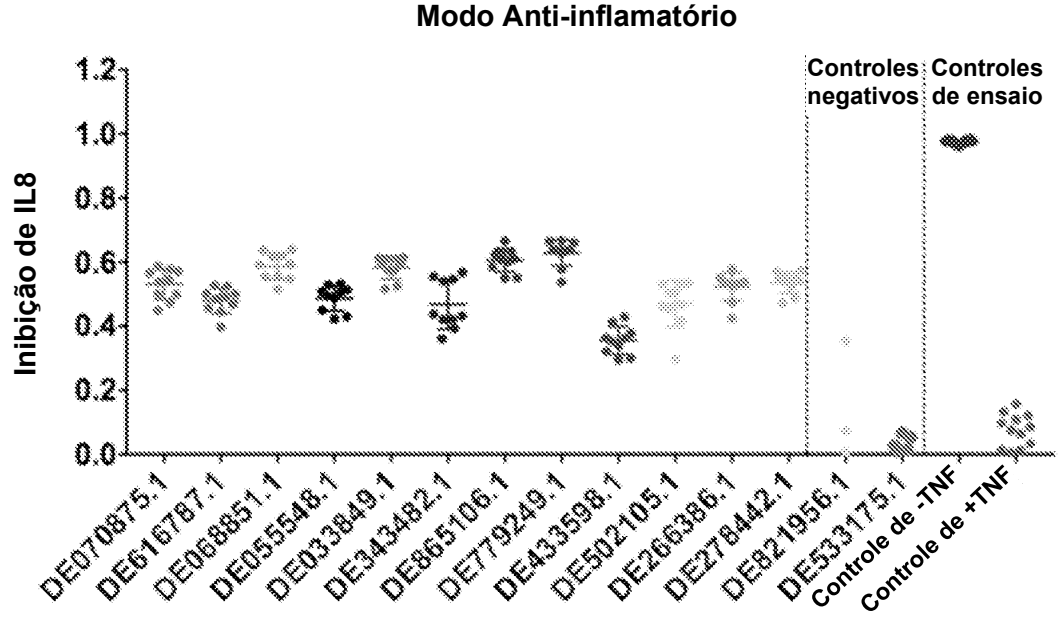


**FIG. 22D**

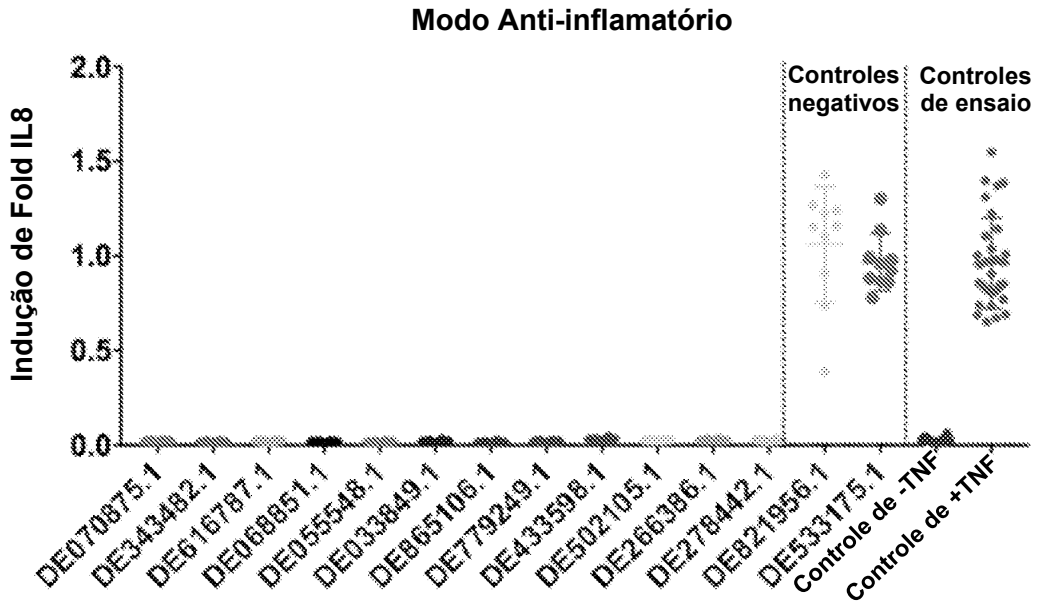



**FIG. 22E**

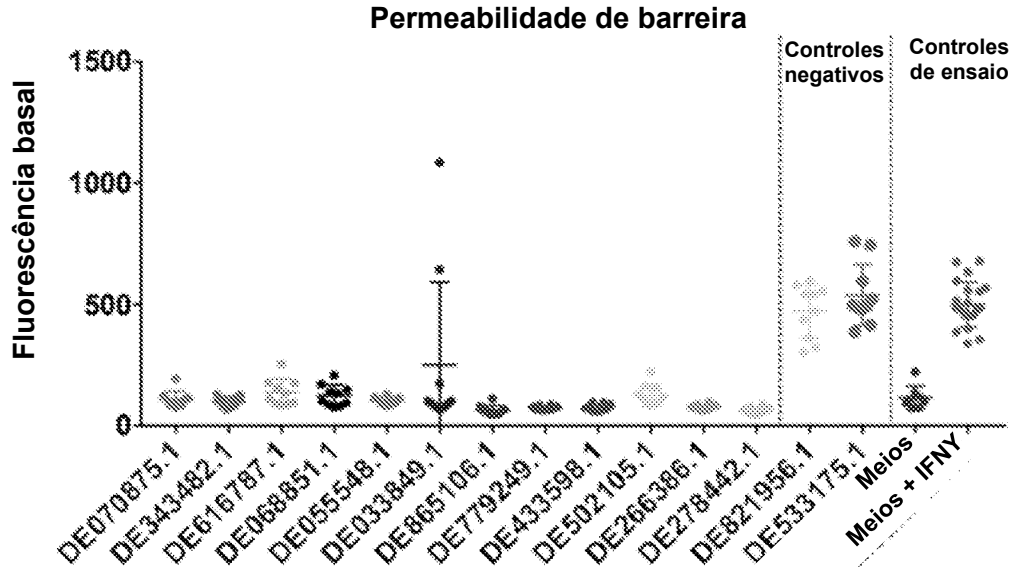


**FIG. 22F**

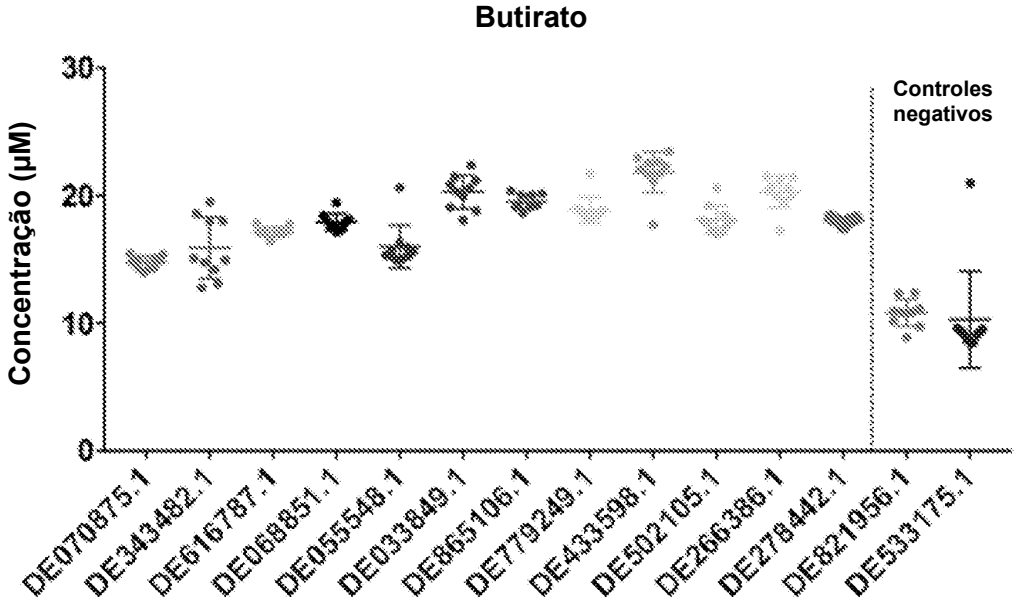



**FIG. 22G**

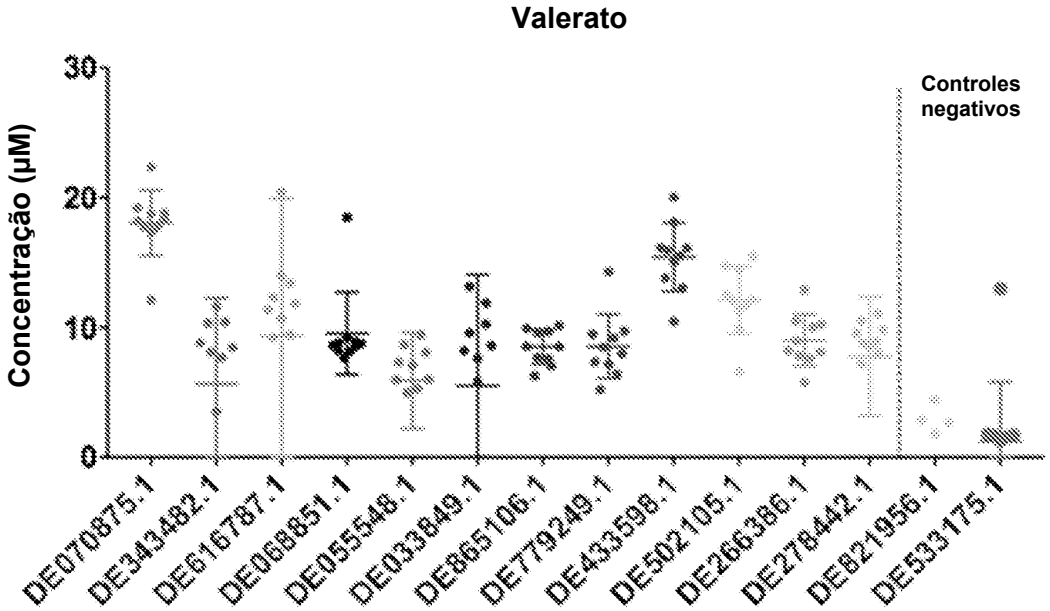


**FIG. 22H**

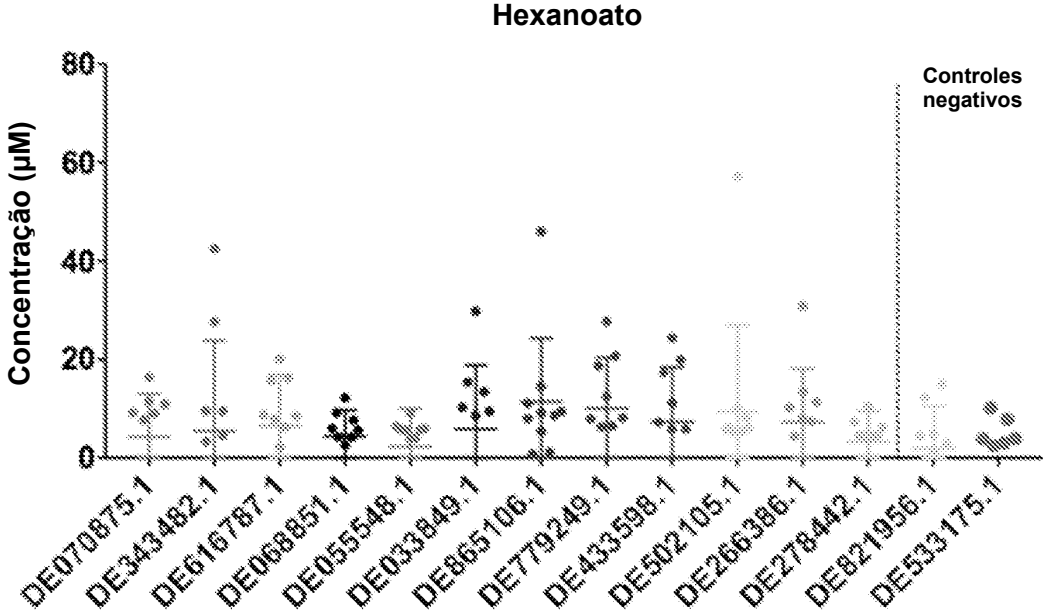



**FIG. 22I**

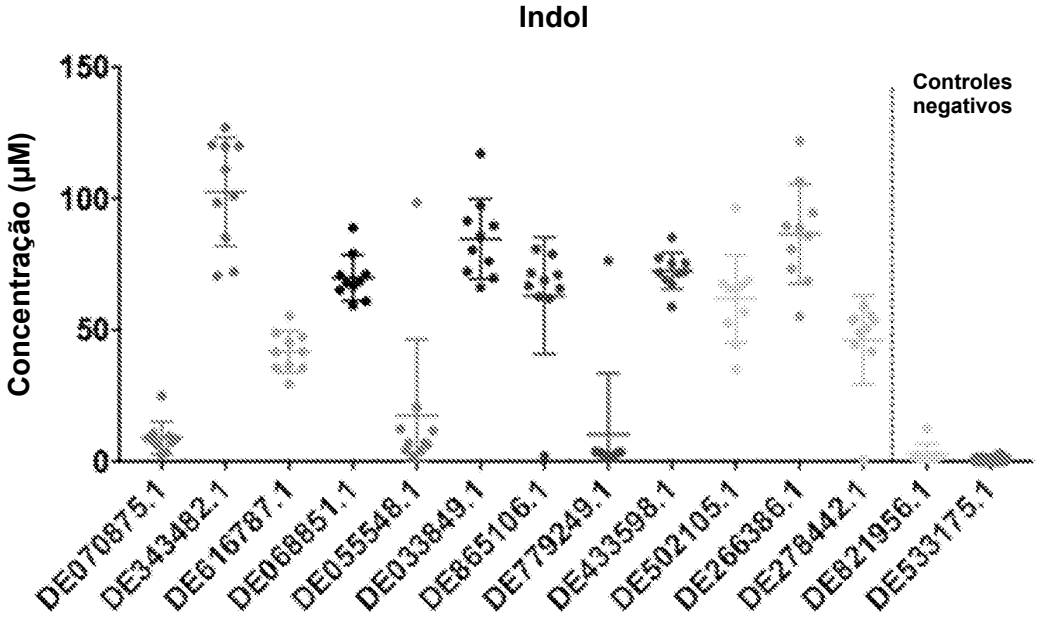


**FIG. 22J**

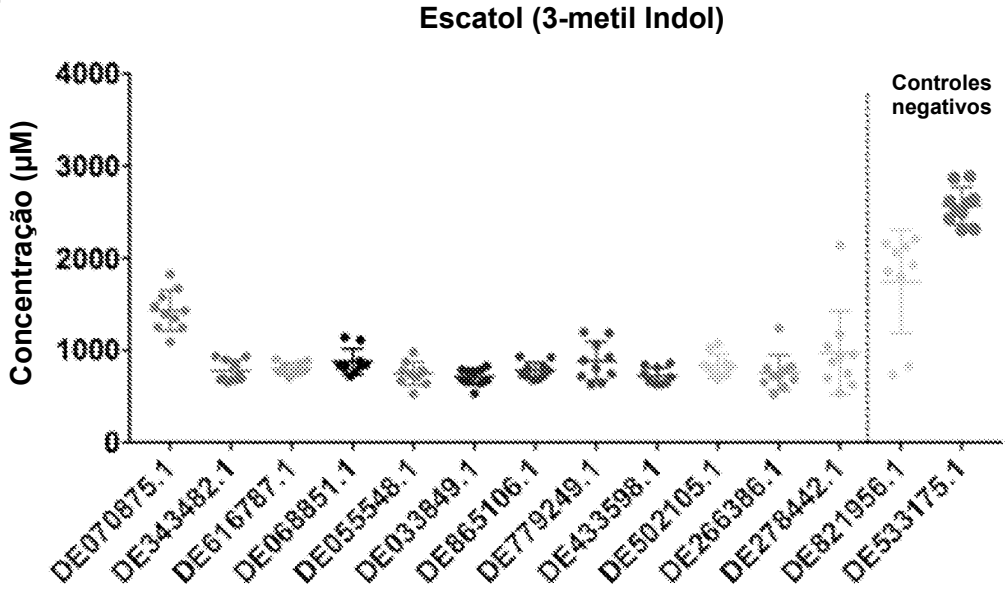



**FIG. 22K**

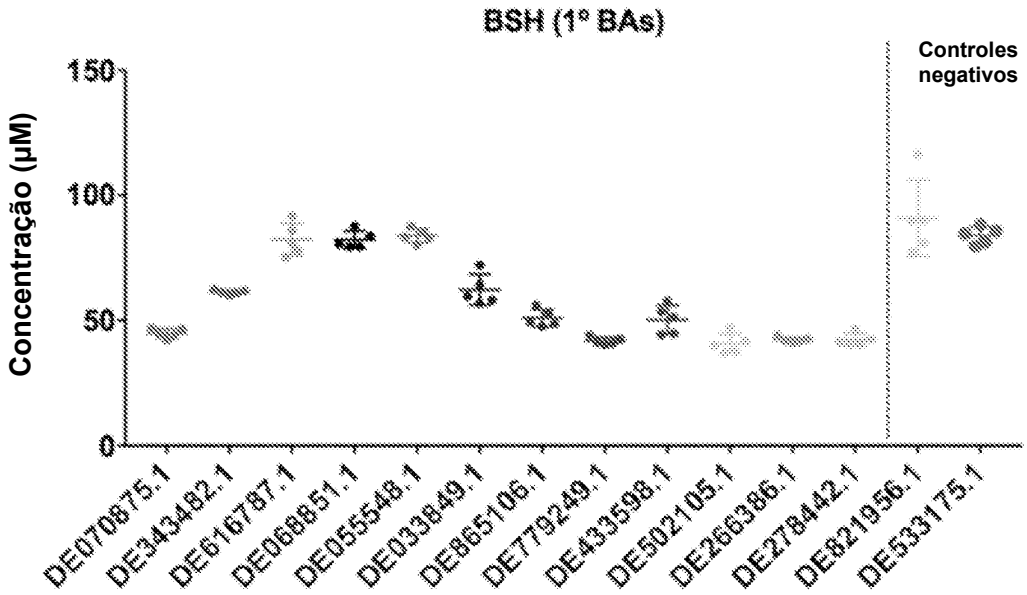


**FIG. 22L**

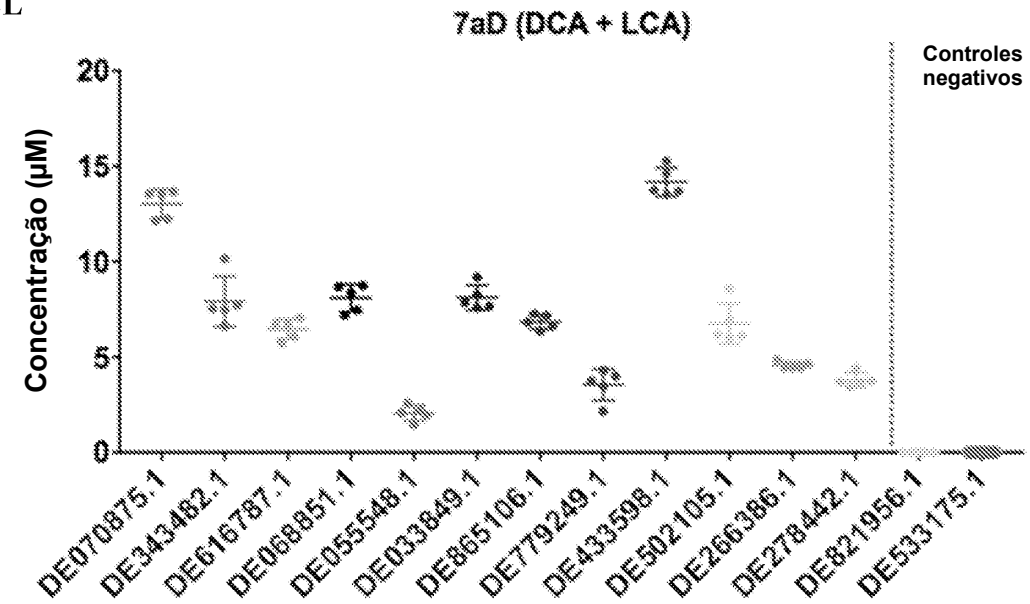



**FIG. 22M**

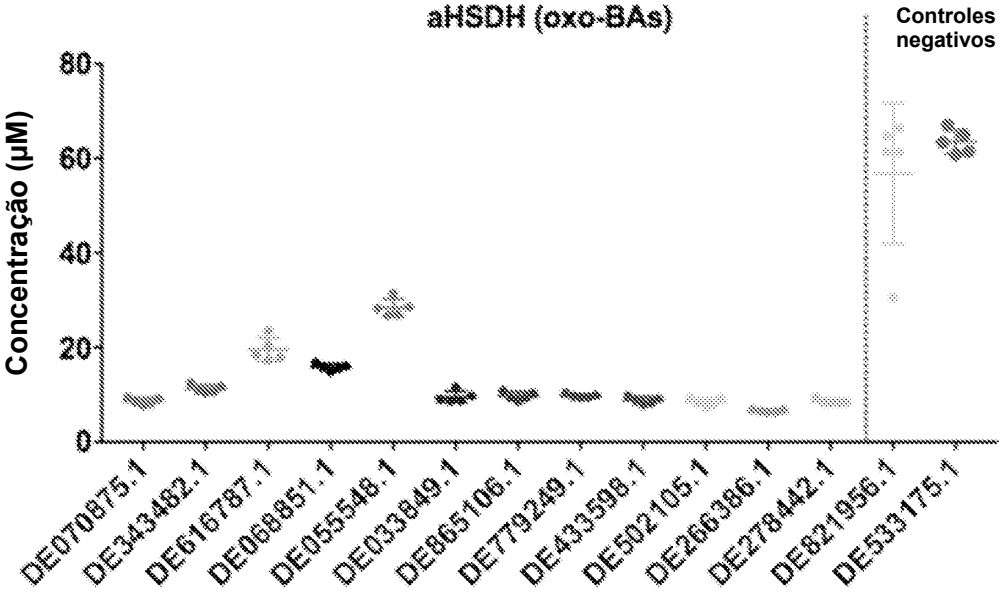


**FIG. 22N**

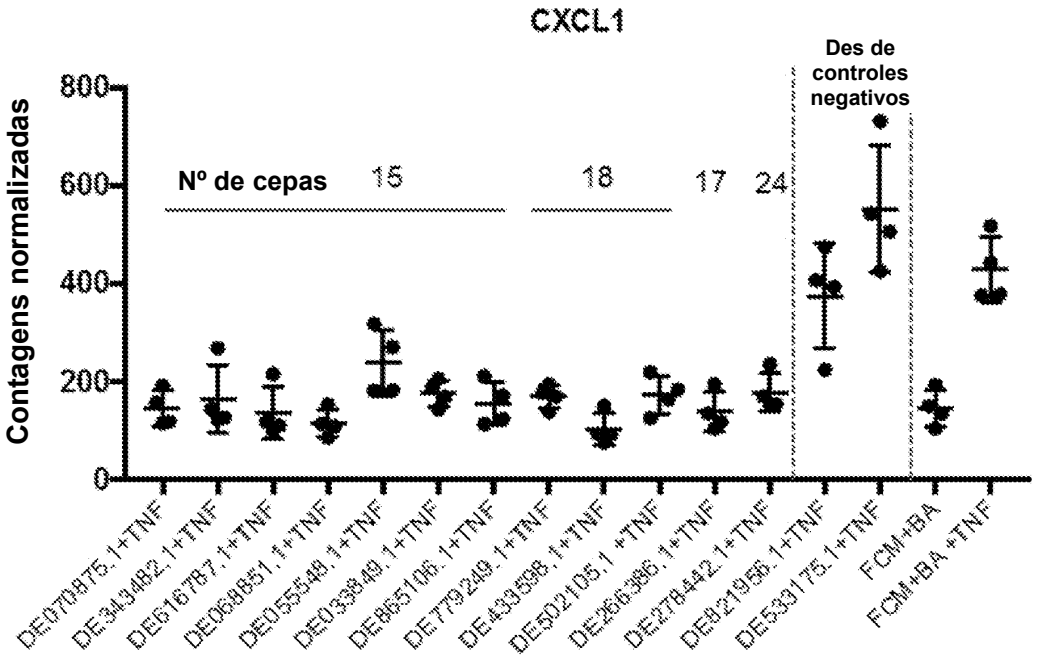



**FIG. 22O**

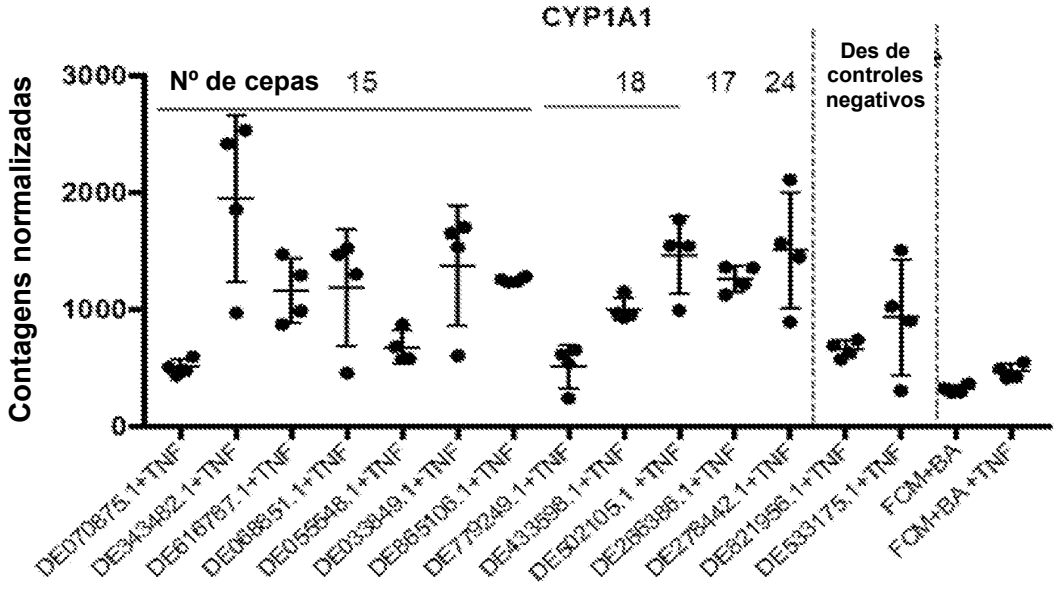


**FIG. 22P**

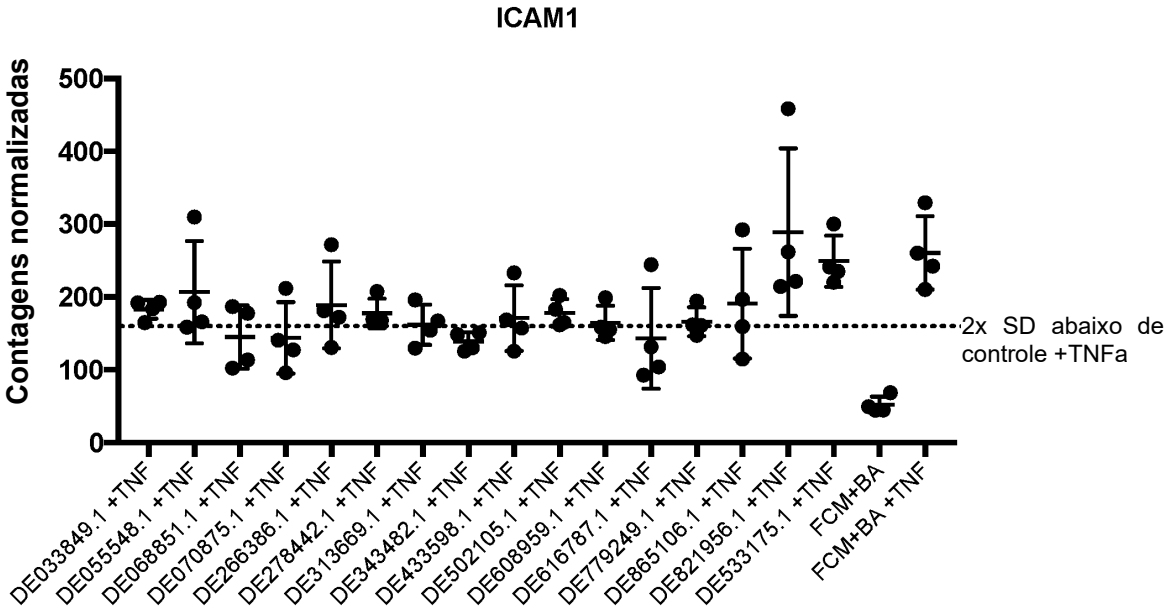

ICAM1
Contagens normalizadas
500
400
300
200
100
0
2x SD abaixo de controle +TNFa
DE033849.1 +TNF
DE055548.1 +TNF
DE068851.1 +TNF
DE070875.1 +TNF
DE266386.1 +TNF
DE278442.1 +TNF
DE313669.1 +TNF
DE343482.1 +TNF
DE433598.1 +TNF
DE502105.1 +TNF
DE608959.1 +TNF
DE616787.1 +TNF
DE779249.1 +TNF
DE865106.1 +TNF
DE821956.1 +TNF
DE533175.1 +TNF
FCM+BA
FCM+BA +TNF

**FIG. 22Q**

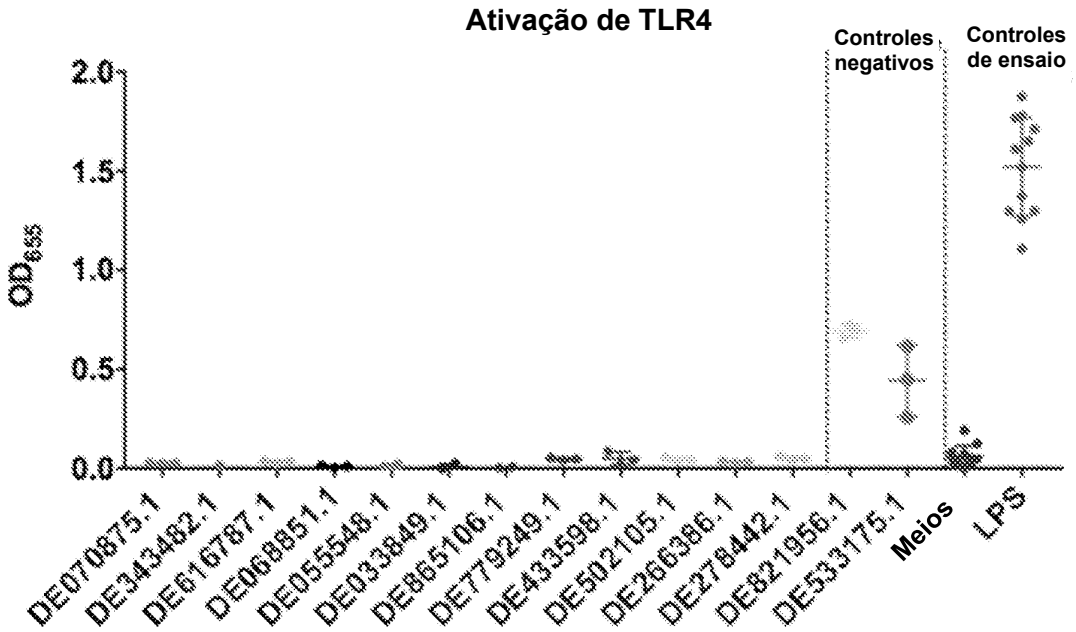
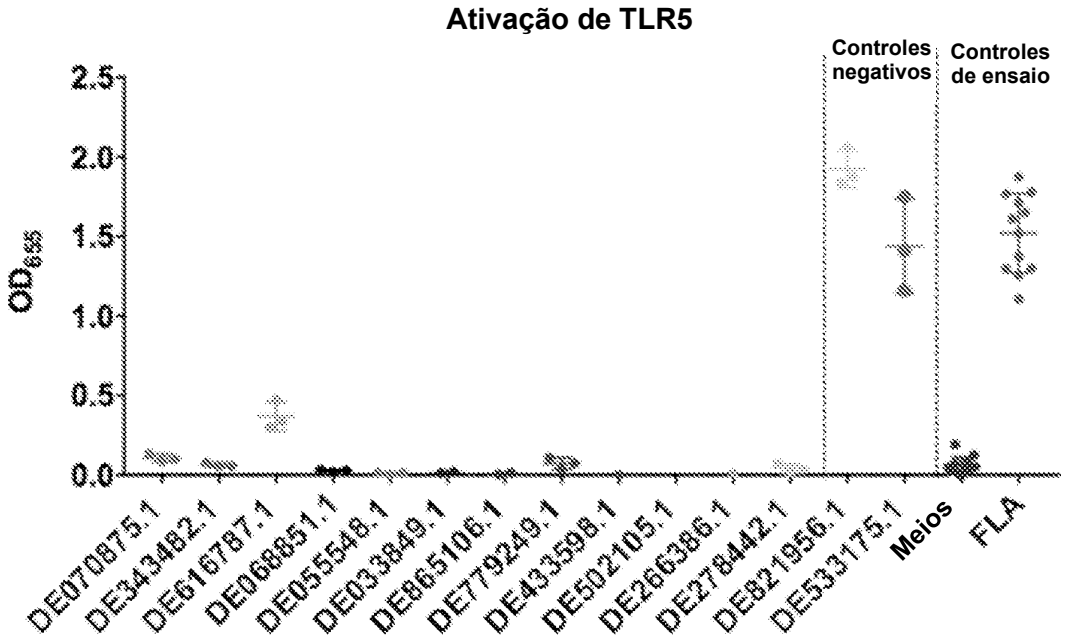



**FIG. 22R**



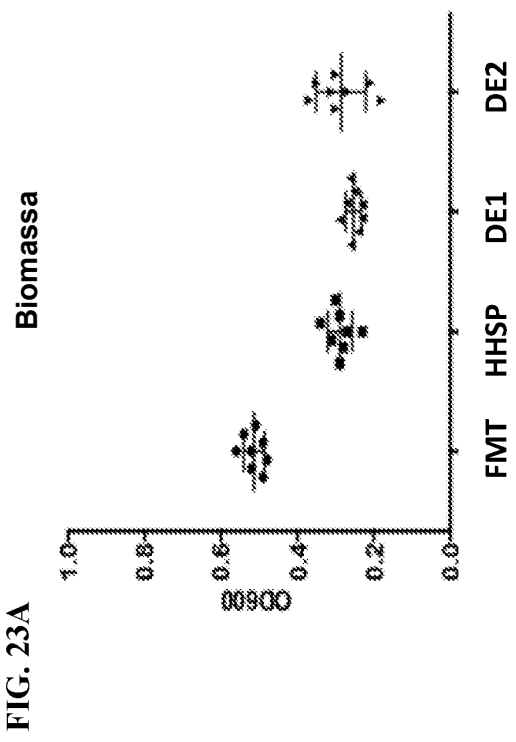



FIG. 23A

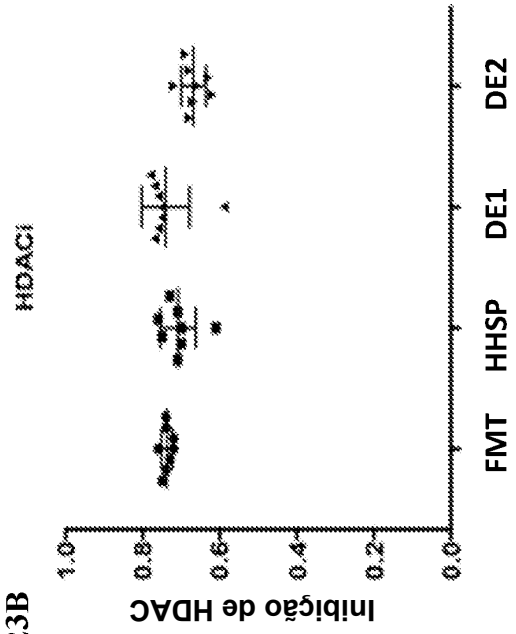



FIG. 23B




FIG. 23C




FIG. 23D

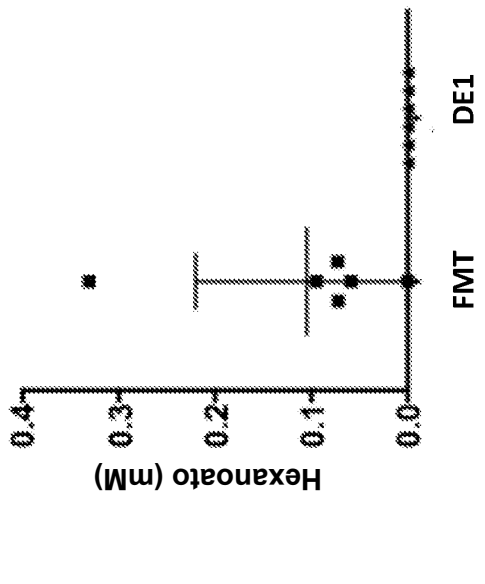



FIG. 23F

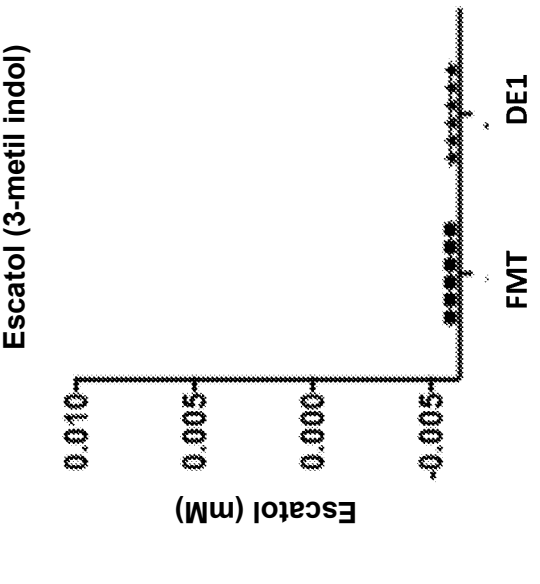



FIG.23H

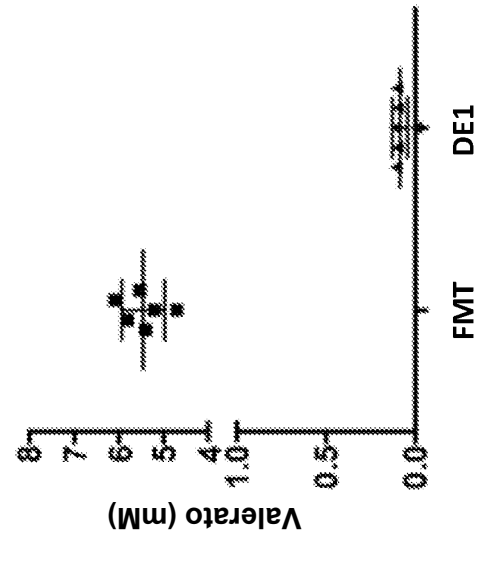



FIG. 23E

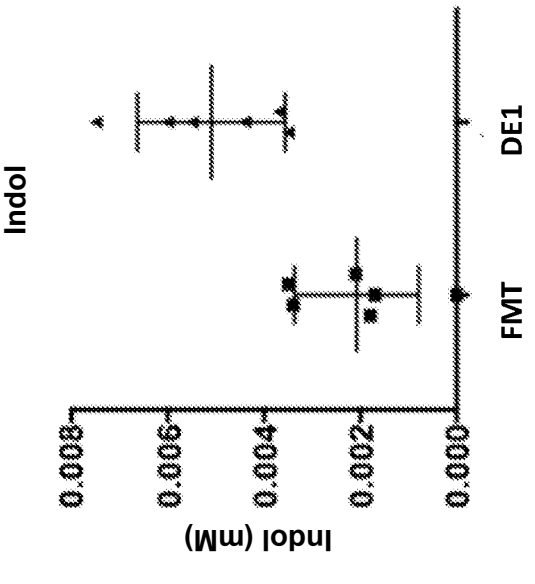



FIG. 23G

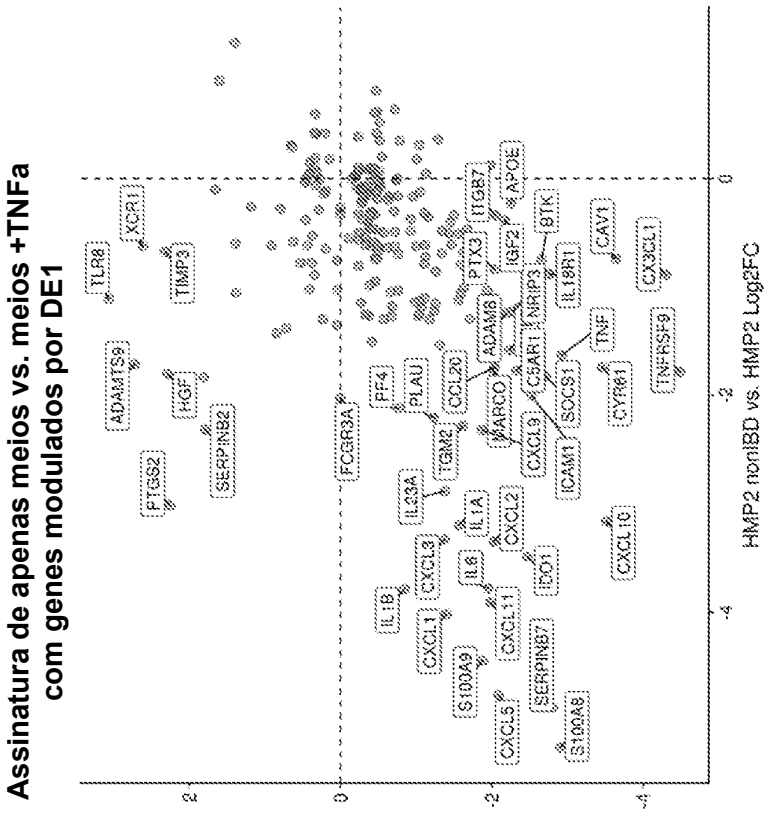



FIG. 24B

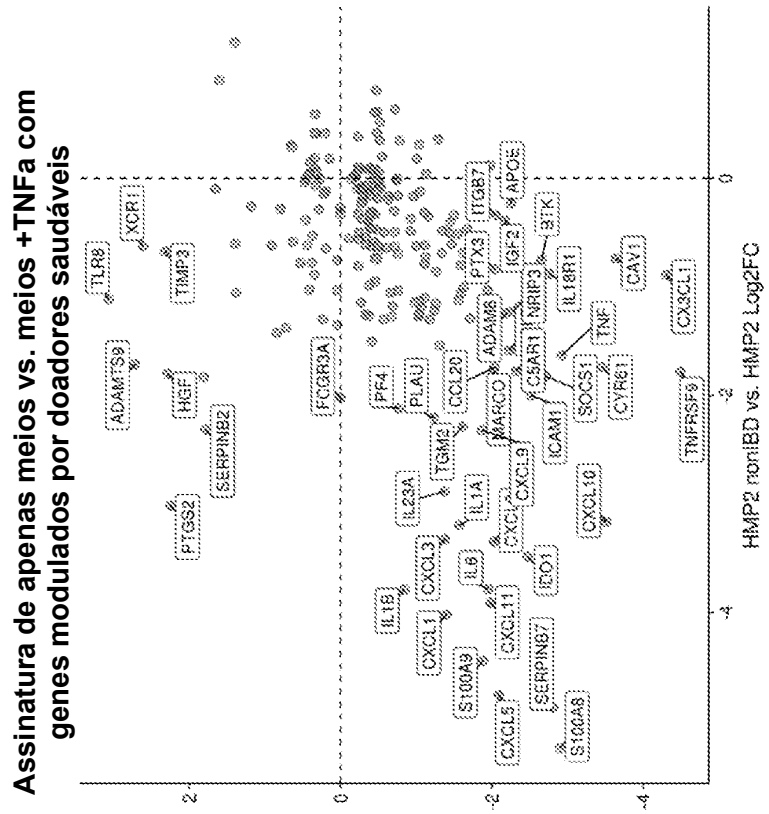



FIG. 24A

**FIG. 25A**

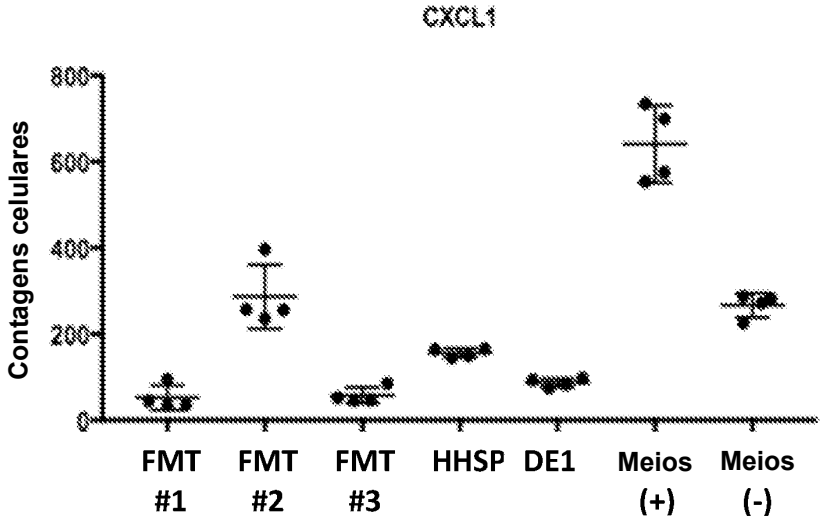



**FIG. 25B**

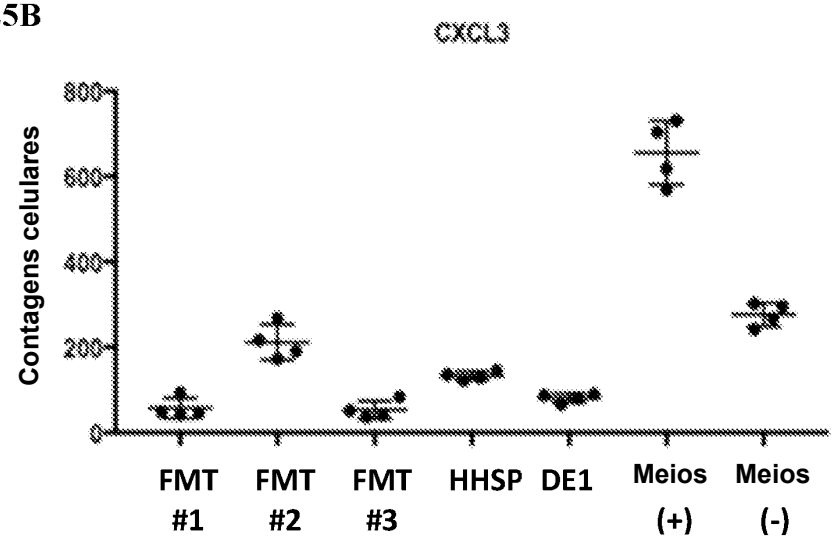



**FIG. 25C**

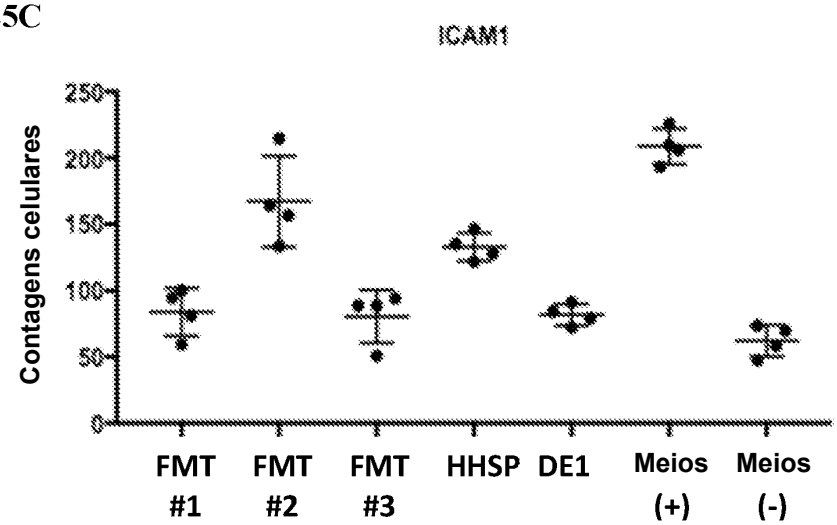


**FIG. 26A**

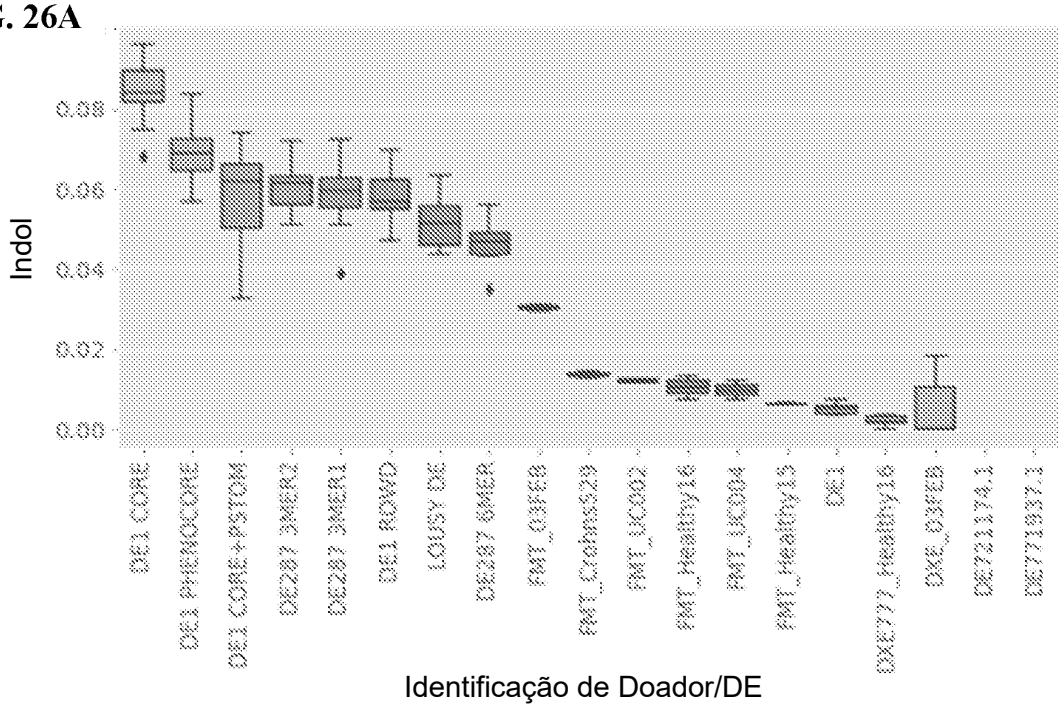
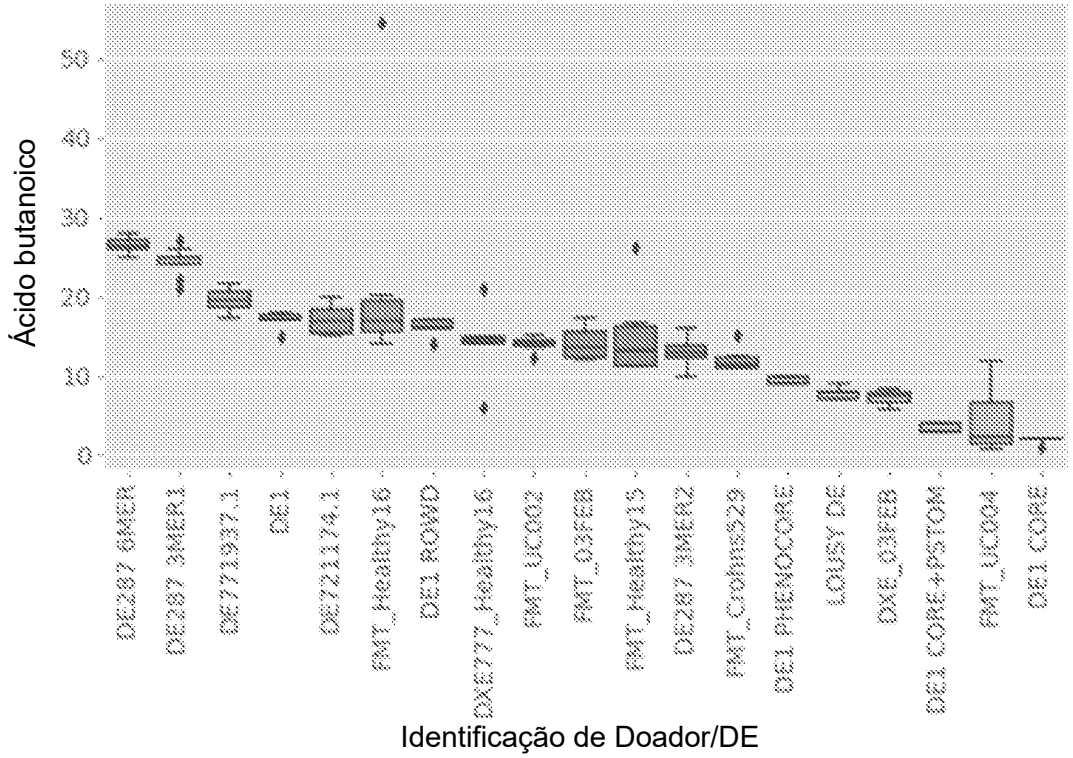



**FIG. 26B**



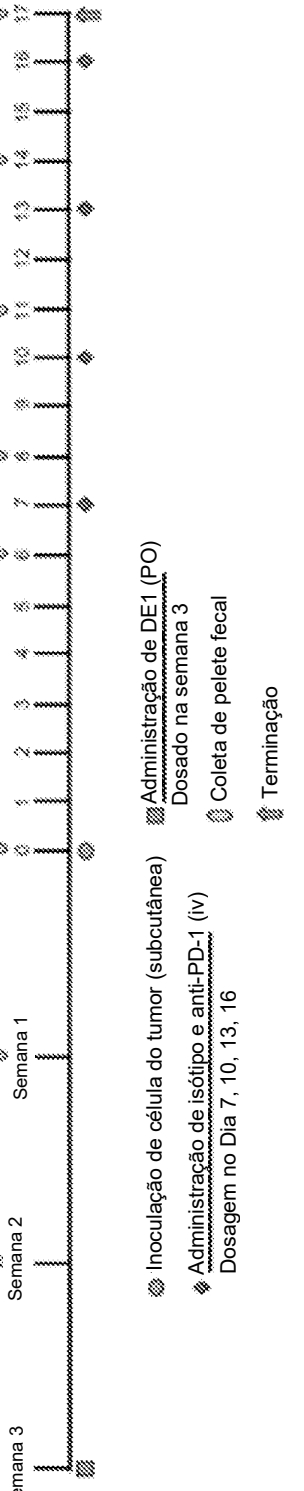



FIG. 27A

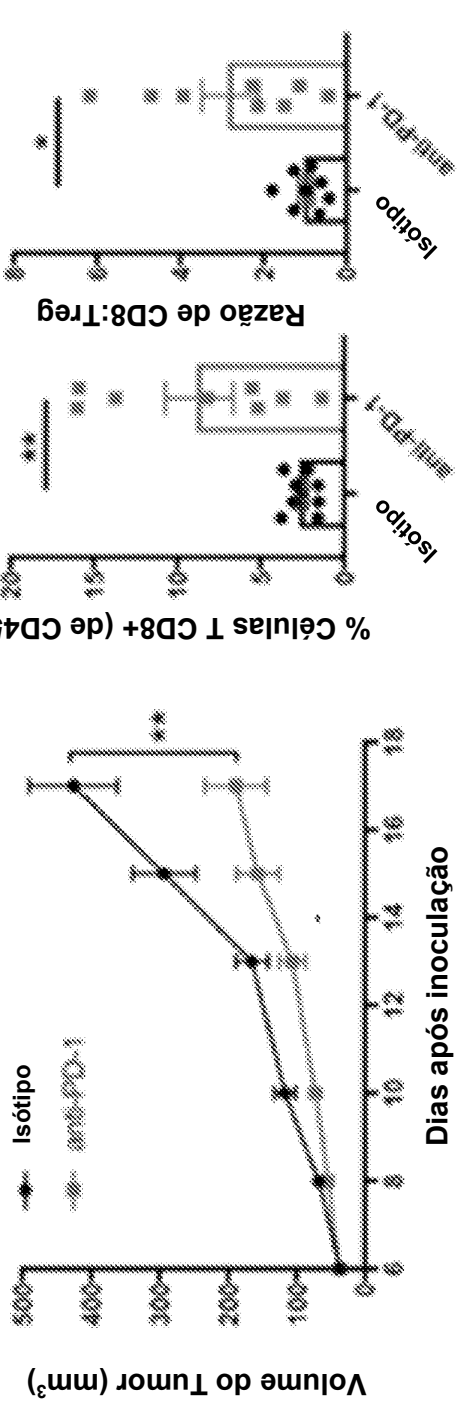



FIG. 27B

FIG. 27C

**FIG. 28A**

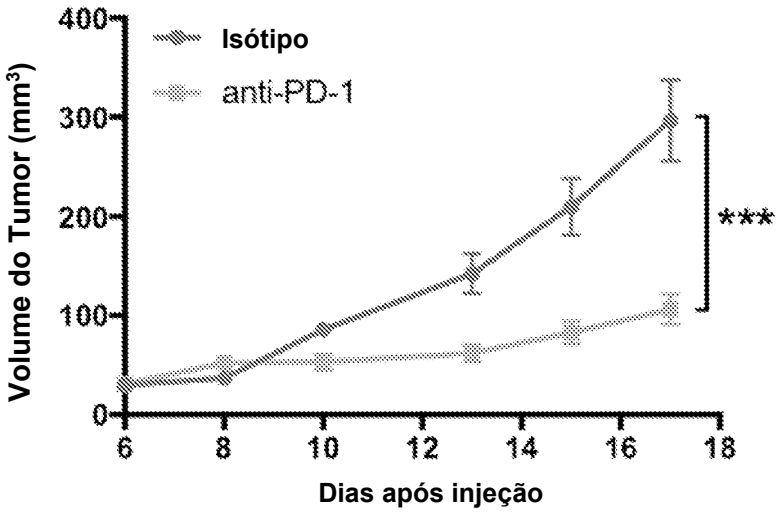



**FIG. 28B**

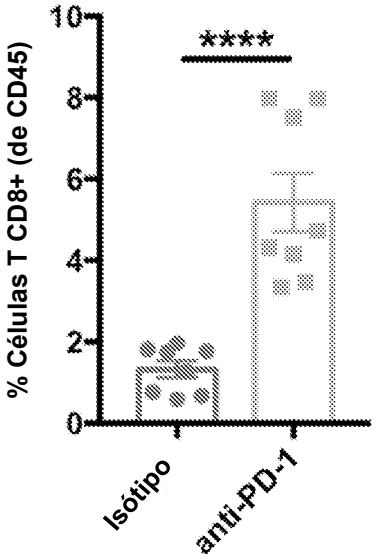
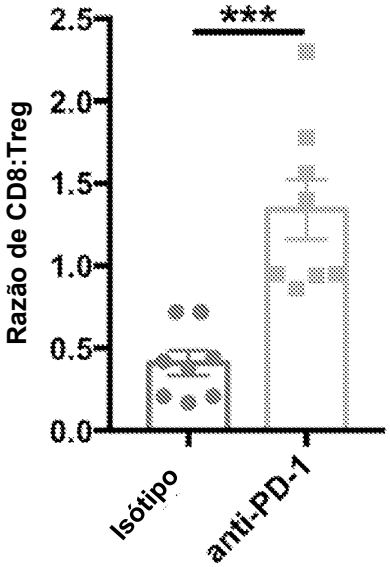



**FIG. 28C**



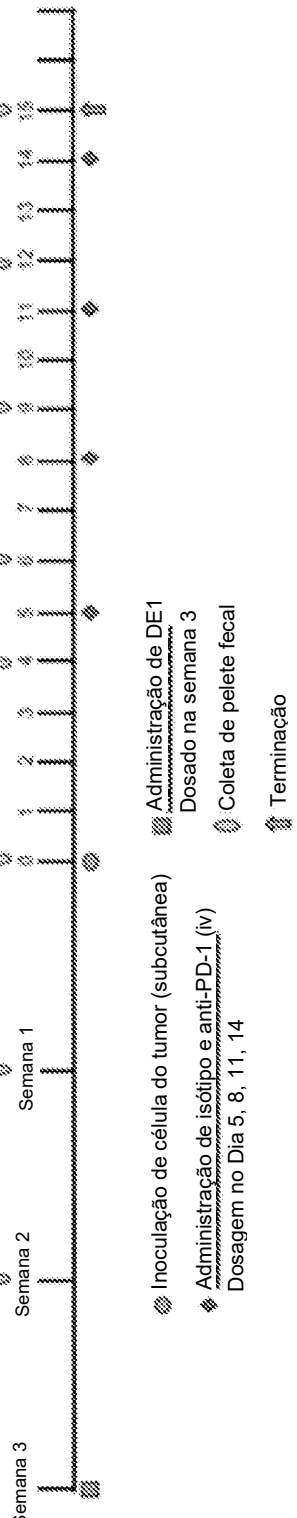



FIG. 29A

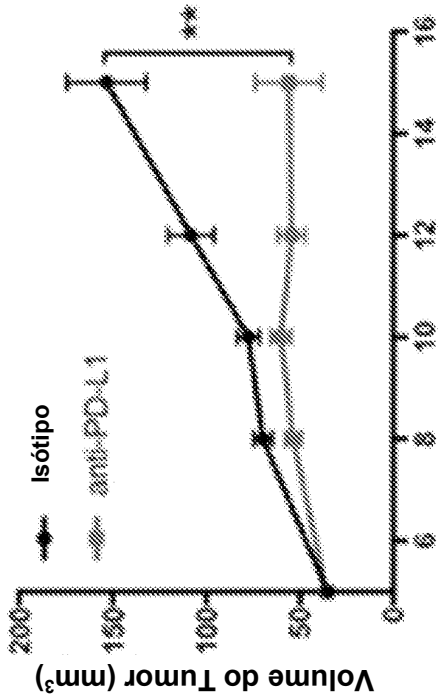



FIG. 29B

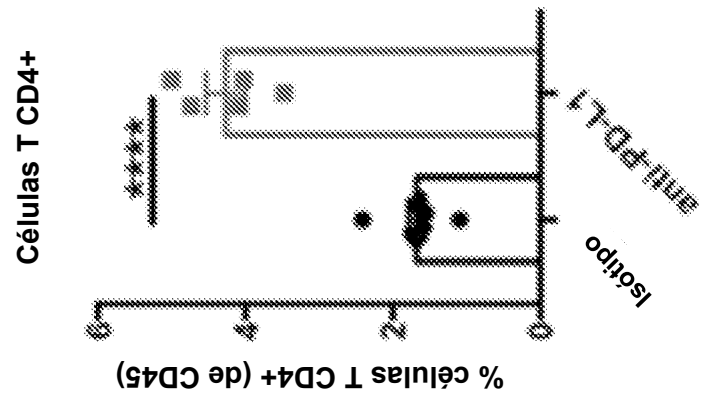



FIG. 29E

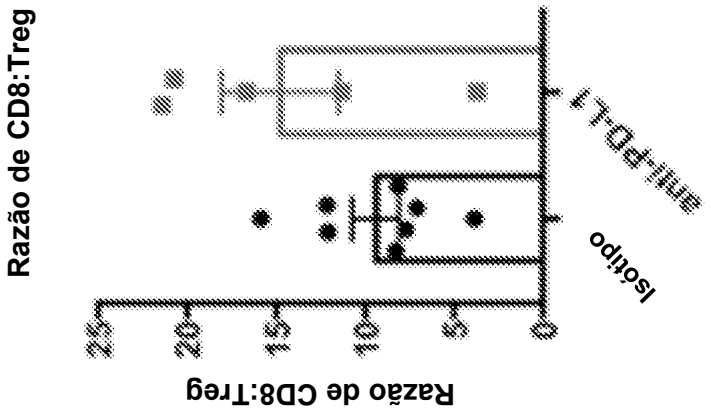



FIG. 29D

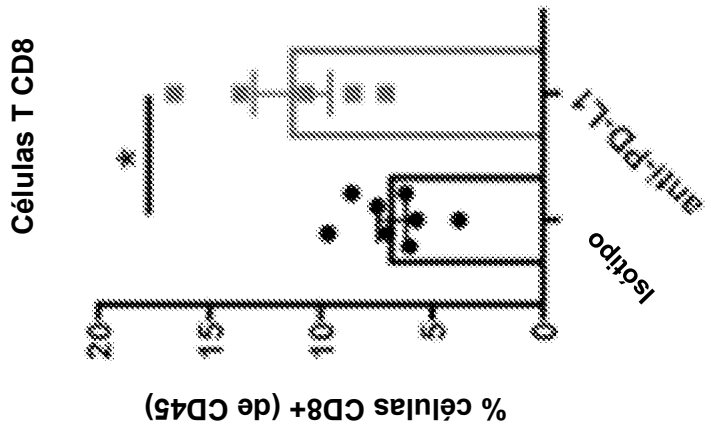



FIG. 29C

**FIG. 30**

| Espécie | DE1 | DE2 | DE3 | DE4 | DE5 | DE6 | DE7 | DE8 | DE9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Alistipes onderdonkii* (SEQ ID NO: 112) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Anaerotruncus colihominis* (SEQ ID NO: 178) | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Bacteria unclassified* (SEQ ID NO: 119) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Bacteroides salyersiae* (SEQ ID NO: 198) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides não classificados* (SEQ ID NO: 213) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides uniformis* (SEQ ID NO: 151) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteroides xylanisolvens* (SEQ ID NO: 182) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium pseudocatenulatum* (SEQ ID NO: 136) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bifidobacterium não classificados* (SEQ ID NO: 227) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Blautia producta* (SEQ ID NO: 107) (SEQ ID NO: 108) (SEQ ID NO: 109) (SEQ ID NO: 110) (SEQ ID NO: 111) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Blautia wexlerae* (SEQ ID NO: 196) | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Closotridium bolteae* (SEQ ID NO: 200) (SEQ ID NO: 201) (SEQ ID NO: 202) (SEQ ID NO: 203) (SEQ ID NO: 204) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**FIG. 30 (cont.)**

| Espécie | DE1 | DE2 | DE3 | DE4 | DE5 | DE6 | DE7 | DE8 | DE9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | |
| *Cepa 2 de Closotridium bolteae* (SEQ ID NO: 183) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Closotridium innocuum* (SEQ ID NO: 190) (SEQ ID NO: 191) (SEQ ID NO: 192) (SEQ ID NO: 193) (SEQ ID NO: 194) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Closotridium lavalense* (SEQ ID NO: 226) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Clostridium butyricum* (SEQ ID NO: 218) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Clostridium disporicum* (SEQ ID NO: 166) (SEQ ID NO: 167) (SEQ ID NO: 168) (SEQ ID NO: 169) (SEQ ID NO: 170) (SEQ ID NO: 171) (SEQ ID NO: 172) (SEQ ID NO: 173) (SEQ ID NO: 174) (SEQ ID NO: 175) (SEQ ID NO: 176) (SEQ ID NO: 177) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium não classificado* (SEQ ID NO: 221) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Coriobacteriaceae não classificado* (SEQ ID NO: 115) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Emergencia limonensis* (SEQ ID NO: 220) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Escherichia fergusonii* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

**FIG. 30 (cont.)**

| Espécie | DE1 | DE2 | DE3 | DE4 | DE5 | DE6 | DE7 | DE8 | DE9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (SEQ ID NO: 188) | | | | | | | | | |
| *Eubacterium siraeum* (SEQ ID NO: 223) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *Faecalicatena contorta* (SEQ ID NO: 132) (SEQ ID NO: 133) (SEQ ID NO: 134) (SEQ ID NO: 135) (SEQ ID NO: 314) (SEQ ID NO: 315) (SEQ ID NO: 316) (SEQ ID NO: 317) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Firmicutes não classificado* (SEQ ID NO: 195) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Cepa 1 de Flavonifractor plautii* (SEQ ID NO: 148) (SEQ ID NO: 149) (SEQ ID NO: 150) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Flavonifractor plautii* (SEQ ID NO: 214) (SEQ ID NO: 215) (SEQ ID NO: 216) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Holdemania filiformis* (SEQ ID NO: 211) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 1 de Intestinimonas butyriciproducens* (SEQ ID NO: 117) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 2 de Intestinimonas butyriciproducens* (SEQ ID NO: 102) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Lachnospiraceae* (SEQ ID NO: 219) | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Lachnospiraceae* | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**FIG. 30 (cont.)**

| Espécie | DE1 | DE2 | DE3 | DE4 | DE5 | DE6 | DE7 | DE8 | DE9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Cepa 2 não classificada* (SEQ ID NO: 153) | | | | | | | | | |
| *Cepa 3 não classificada de Lachnospiraceae* (SEQ ID NO: 222) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Cepa 5 não classificada de Lachnospiraceae* (SEQ ID NO: 179) (SEQ ID NO: 180) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| *Cepa 2 Murimonas intestini* (SEQ ID NO: 154) (SEQ ID NO: 155) (SEQ ID NO: 156) (SEQ ID NO: 157) (SEQ ID NO: 158) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Oscillibacter não classificada* (SEQ ID NO: 116) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *Paeniclostridium sordellii* (SEQ ID NO: 118) | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Peptostreptococcus stomatis* (SEQ ID NO: 189) | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Roseburia não classificada* (SEQ ID NO: 160) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Streptococcus parasanguinis* (SEQ ID NO: 113) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Subdoligranulum não classificada* (SEQ ID NO: 105) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Terrisporobacter mayombei* (SEQ ID NO: 120) (SEQ ID NO: 121) (SEQ ID NO: 122) (SEQ ID NO: 123) | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

**FIG. 30 (cont.)**

| Espécie | DE1 | DE2 | DE3 | DE4 | DE5 | DE6 | DE7 | DE8 | DE9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (SEQ ID NO: 124)<br>(SEQ ID NO: 125)<br>(SEQ ID NO: 126)<br>(SEQ ID NO: 127)<br>(SEQ ID NO: 128)<br>(SEQ ID NO: 129)<br>(SEQ ID NO: 130)<br>(SEQ ID NO: 131) | | | | | | | | | |

**FIG. 31**

| Espécie | DE10 | DE11 | DE12 | DE13 | DE14 | DE15 | DE16 | DE17 | DE18 | DE19 | DE20 | DE21 | DE22 | DE23 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Anaerotruncus colihominis* (SEQ ID NO: 178) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Bacteria não classificada* (SEQ ID NO: 119) | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Blautia obeum* (SEQ ID NO: 187) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| *Blautia producta* (SEQ ID NO: 107) (SEQ ID NO: 108) (SEQ ID NO: 109) (SEQ ID NO: 110) (SEQ ID NO: 111) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Clostridium aldenense* (SEQ ID NO: 197) (SEQ ID NO: 263) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Cepa 1 de Clostridium bolteae* (SEQ ID NO: 200) (SEQ ID NO: 201) (SEQ ID NO: 202) (SEQ ID NO: 203) (SEQ ID NO: 204) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Clostridium innocuum* (SEQ ID NO: 190) (SEQ ID NO: 191) (SEQ ID NO: 192) (SEQ ID NO: 193) (SEQ ID NO: 194) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Clostridium lavalense* (SEQ ID NO: 159) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Clostridium lavalense* | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

**FIG. 31 (cont.)**

| **Espécie** | **DE10** | **DE11** | **DE12** | **DE13** | **DE14** | **DE15** | **DE16** | **DE17** | **DE18** | **DE19** | **DE20** | **DE21** | **DE22** | **DE23** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (SEQ ID NO: 226) | | | | | | | | | | | | | | |
| *Closotridium leptum* (SEQ ID NO: 212) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| *Closotridium scindens* (SEQ ID NO: 152) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Clostridium paraputrificum* (SEQ ID NO: 185) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Coprobacillus* não classificada (SEQ ID NO: 186) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| *Cepa 1 de Emergencia timonensis* (SEQ ID NO: 220) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Emergencia timonensis* (SEQ ID NO: 210) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Faecalicatena contorta* (SEQ ID NO: 132) (SEQ ID NO: 133) (SEQ ID NO: 134) (SEQ ID NO: 135) (SEQ ID NO: 314) (SEQ ID NO: 315) (SEQ ID NO: 316) (SEQ ID NO: 317) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Faecalicatena orotica* (SEQ ID NO: 205) (SEQ ID NO: 206) (SEQ ID NO: 207) (SEQ ID NO: 208) (SEQ ID NO: 209) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Firmicutes* não classificada (SEQ ID NO: 195) | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |

**FIG. 31 (cont.)**

| Espécie | DE10 | DE11 | DE12 | DE13 | DE14 | DE15 | DE16 | DE17 | DE18 | DE19 | DE20 | DE21 | DE22 | DE23 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Cepa 1 de Flavonifractor plautii* (SEQ ID NO: 148) (SEQ ID NO: 149) (SEQ ID NO: 150) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| *Holdemania filiformis* (SEQ ID NO: 211) | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| *Intestinibacter bartlettii* (SEQ ID NO: 103) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Intestinimonas butyriciproducens* (SEQ ID NO: 117) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 4 de Lachnospiraceae não classificada* (SEQ ID NO: 224) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| *Cepa 5 de Lachnospiraceae não classificada* (SEQ ID NO: 179) (SEQ ID NO: 180) | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| *Cepa 1 de Murimonas intestini* (SEQ ID NO: 161) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Oscillibacter não classificada* (SEQ ID NO: 116) | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| *Paeniclostridium sordellii* (SEQ ID NO: 118) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Ruminococcaceae não classificada* (SEQ ID NO: 199) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| *Cepa 3 de Ruminococcaceae não classificada* (SEQ ID NO: 181) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| *Ruminococcaceae não classificada* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 |

**FIG. 31 (cont.)**

| **Espécie** | **DE10** | **DE11** | **DE12** | **DE13** | **DE14** | **DE15** | **DE16** | **DE17** | **DE18** | **DE19** | **DE20** | **DE21** | **DE22** | **DE23** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (SEQ ID NO: 114) | | | | | | | | | | | | | | |

**FIG. 32**

| **Espécie** | **DE24** | **DE25** | **DE26** | **DE27** | **DE28** | **DE29** | **DE30** | **DE31** | **DE32** | **DE33** | **DE34** | **DE35** | **DE36** | **DE37** | **DE38** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Anaerotruncus colihominis* (SEQ ID NO: 178) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Bifidobacterium não classificada* (SEQ ID NO: 227) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Blautia obeum* (SEQ ID NO: 187) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Blautia wexlerae* (SEQ ID NO: XX) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Closotridium aldenense* (SEQ ID NO: XX) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 1 de Closotridium bolteae* (SEQ ID NO: 200) (SEQ ID NO: 201) (SEQ ID NO: 202) (SEQ ID NO: 203) (SEQ ID NO: 204) | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 2 de Closotridium bolteae* (SEQ ID NO: 183) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Closotridium innocuum* (SEQ ID NO: | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |

**FIG. 32 (cont.)**

| Espécie | DE24 | DE25 | DE26 | DE27 | DE28 | DE29 | DE30 | DE31 | DE32 | DE33 | DE34 | DE35 | DE36 | DE37 | DE38 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 190) (SEQ ID NO: 191) (SEQ ID NO: 192) (SEQ ID NO: 193) (SEQ ID NO: 194) | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Cepa 1 de Closotridium lavalense* (SEQ ID NO: 159) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Closotridium lavalense* (SEQ ID NO: 226) | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Closotridium leptum* (SEQ ID NO: 212) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Closotridium scindens* (SEQ ID NO: 152) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Clostridium butyricum* (SEQ ID NO: 218) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

**FIG. 32 (cont.)**

| **Espécie** | **DE24** | **DE25** | **DE26** | **DE27** | **DE28** | **DE29** | **DE30** | **DE31** | **DE32** | **DE33** | **DE34** | **DE35** | **DE36** | **DE37** | **DE38** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Clostridium tertium* (SEQ ID NO: 137) (SEQ ID NO: 138) (SEQ ID NO: 139) (SEQ ID NO: 140) (SEQ ID NO: 141) (SEQ ID NO: 142) (SEQ ID NO: 143) (SEQ ID NO: 144) (SEQ ID NO: 145) (SEQ ID NO: 146) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Coprobacillus* não classificada (SEQ ID NO: 186) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Eisenbergiella tayi* (SEQ ID NO: 104) | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Cepa 2 de *Emergencia limonensis* (SEQ ID NO: 210) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Escherichia fergusonii* (SEQ ID NO: 188) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Eubacterium siraeum* | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |

**FIG. 32 (cont.)**

| Espécie | DE24 | DE25 | DE26 | DE27 | DE28 | DE29 | DE30 | DE31 | DE32 | DE33 | DE34 | DE35 | DE36 | DE37 | DE38 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (SEQ ID NO: 223) | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Firmicutes não classificada* (SEQ ID NO: 195) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Flavonifractor plautii* (SEQ ID NO: 214) (SEQ ID NO: 215) (SEQ ID NO: 216) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *Holdemania filiformis* (SEQ ID NO: 211) | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Intestinibacter bartlettii* (SEQ ID NO: 103) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Cepa 2 de Inrestinimonas butyriciproducens* (SEQ ID NO: 102) | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 4 de Lachnospiraceae não classificada* (SEQ ID NO: 224) | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| *Cepa 5 de Lachnospiraceae não classificada* (SEQ ID NO: 179) (SEQ ID NO: 180) | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |

**FIG. 32 (cont.)**

| **Espécie** | **DE24** | **DE25** | **DE26** | **DE27** | **DE28** | **DE29** | **DE30** | **DE31** | **DE32** | **DE33** | **DE34** | **DE35** | **DE36** | **DE37** | **DE38** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Lactonifactor longoviformis* (SEQ ID NO: 147) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Oscilibacter* não classificada (SEQ ID NO: 116) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Roseburia hominis* (SEQ ID NO: 106) | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 1 de Roseburia* não classificada (SEQ ID NO: 160) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Cepa 2 de Roseburia* não classificada (SEQ ID NO: 225) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| *Cepa 1 de Ruminococcaceae* não classificada (SEQ ID NO: 184) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| *Cepa 3 de Ruminococcaceae* não classificada (SEQ ID NO: 181) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| *Ruthenibacterium lactatiformans* (SEQ ID NO: 217) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Streptococcus parasanguinis* (SEQ ID NO: 113) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

## RESUMO

## COMPOSIÇÕES BACTERIANAS PROJETADAS E USOS DESTAS

O presente documento fornece composições bacterianas que são uteis e preventivas para complicações e efeitos colaterais associados com as doenças ou distúrbios, tais como aqueles associados com disbiose de um trato gastrointestinal. As composições bacterianas aqui apresentadas são elaboradas para exibir uma ou mais características funcionais que são uteis para o tratamento de tais doenças e distúrbios.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

**Código de Controle**

Campo 1




Campo 2




Outras Informações:

- Nome do Arquivo: 2020_52295 SeqlistingST25_Portuguese.txt
- Data de Geração do Código: 11/04/2021
- Hora de Geração do Código: 12:01:09
- Código de Controle:
    - Campo 1: BCE01C4DCFB4CAA5
    - Campo 2: F647A49CD67B8EFD