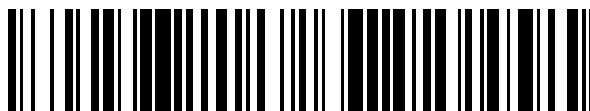


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 875 765**

51 Int. Cl.:

A61Q 11/00 (2006.01)
A61K 8/99 (2007.01)
A61K 35/747 (2015.01)
A61P 1/02 (2006.01)
A23L 33/135 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 11/04 (2006.01)
C12R 1/25 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.01.2017 PCT/EP2017/051003**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.07.2017 WO17125446**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.01.2017 E 17701446 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.03.2021 EP 3405263**

54 Título: **Nueva cepa bacteriana probiótica de Lactobacillus Plantarum y composiciones y usos de la misma en el tratamiento de inflamación**

30 Prioridad:

19.01.2016 GB 201600975

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.11.2021

73 Titular/es:

PROBI AB (100.0%)
Sölvegatan 41
223 70 Lund, SE

72 Inventor/es:

FISCHER, JÖRG THILO;
GÖTZ, MARCUS RUDOLF;
MOLIN, GÖRAN y
AHRNE, SIV

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 875 765 T3

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

DESCRIPCIÓN

Nueva cepa bacteriana probiótica de *Lactobacillus Plantarum* y composiciones y usos de la misma en el tratamiento de inflamación

- 5 La presente invención se refiere a una nueva cepa bacteriana *Lactobacillus plantarum* Gos 42 (DSM 32131) y composiciones de esta para su uso como probiótico. La nueva cepa presenta un uso particular en medicina, de manera especial, en el tratamiento y/o la prevención de inflamación. La nueva cepa y composiciones de esta presentan una utilidad particular en el tratamiento y/o la prevención de la inflamación en la cavidad oral, preferentemente, para el tratamiento y/o la prevención de gingivitis y/o periodontitis.
- 10 En particular, la nueva cepa y composiciones de esta se pueden utilizar como agentes antiinflamatorios para reducir o inhibir la liberación de uno o más factores inflamatorios que se seleccionan a partir del grupo que consiste en interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral (TNF), prostaglandina E2 (PGE2), isoprostanos, metaloproteidasa de matriz 9 (MMP9) y NF- κ B.
- 15 Preferentemente, la nueva cepa de la invención es un probiótico, esto es, un microorganismo que confiere un beneficio cuando se desarrolla en un microambiente particular, p. ej., al inhibir o evitar el crecimiento de otros organismos en el mismo microambiente. Los ejemplos de microorganismos probióticos incluyen lactobacilos que pueden colonizar el tracto gastrointestinal, al menos de manera temporal, para desplazar o destruir organismos patógenos, así como proporcionar otros beneficios al huésped.
- 20 Según se utiliza en la presente memoria, "probiótico" se refiere a microorganismos que forman al menos una parte de la flora transitoria o endógena y exhiben así un efecto profiláctico y/o terapéutico beneficioso en el organismo huésped. Según se conoce por los expertos en la técnica, los probióticos son, de manera general, clínicamente seguros (es decir, no patógenos). A modo de ejemplo, pero sin limitación a cualquier mecanismo particular, el efecto profiláctico y/o terapéutico de una bacteria productora de ácido de la presente invención se obtiene como resultado, en parte, de una inhibición competitiva del crecimiento de patógenos debido a: (i) sus capacidades de colonización superiores; (ii) el parasitismo de microorganismos no convenientes; (iii) la producción de ácido (p. ej., láctico, acético y otros compuestos ácidos) y/u otros productos extracelulares que poseen actividad antimicrobiana; y (iv) diversas combinaciones de estas. Se debería señalar que los productos y actividades antes mencionados de las bacterias productoras de ácido de la presente invención actúan de manera sinérgica para producir el efecto probiótico beneficioso que se divulga en la presente memoria.
- 25 La preparación purificada o aislada de una cepa bacteriana se refiere a que la preparación no contiene otras especies o cepas bacterianas en una cantidad suficiente para interferir con la replicación de la preparación a una temperatura particular. Se realiza una preparación purificada o aislada de una cepa bacteriana mediante el uso de procedimientos convencionales, p. ej., colocación en placa en una dilución limitada y selección de temperatura.
- 30 Las condiciones inflamatorias de las encías se inducen principalmente por la formación de placa dental. Las bacterias colonizadoras forman una biopelícula en la superficie de los dientes gracias a la presencia de residuos de alimentos así como componentes de la saliva. Si no se remueven lo suficiente en una etapa temprana, las películas de placa en la superficie de los dientes dan como resultado la deposición de cálculo dental que resulta muy difícil de retirar. La presencia de un número elevado de bacterias en el margen gingival provoca inflamación de las encías, que se conoce como gingivitis. En personas susceptibles, la gingivitis puede progresar a periodontitis, lo que puede provocar la pérdida de dientes. En particular, los lipopolisacáridos (LPS) que se presentan en las bacterias gramnegativas pueden causar una respuesta inmune no específica por parte de macrófagos estimulados por LPS, que liberan prostaglandina E2 (PGE2) y mediadores proinflamatorios tales como interleucinas y TNF- α en el tejido afectado. Los mediadores proinflamatorios inducen la liberación de PGE2 adicionales y metaloproteinasas de matriz (MMP) a partir de los fibroblastos residentes, que destruyen la matriz extracelular del tejido circundante. Esto permite que las bacterias penetren de manera más profunda en el tejido y promuevan el proceso inflamatorio independiente de la capa externa del epitelio y la raíz dentaria, lo que provoca la formación de una bolsa periodontal. El hueso alveolar que sostiene el diente se reabsorbe antes que las bacterias en avance y esto provoca que el diente se vuelva inestable y, si no se trata, se pierde.
- 35 Con el fin de evitar la destrucción progresiva de las encías, las respuestas inflamatorias en la cavidad oral se deben suprimir en las primeras etapas o evitar, de manera ideal.
- Muchos enfoques diferentes han abordado este problema, los cuales varían desde procedimientos mejorados para el retiro mecánico de placa al uso de productos para el cuidado bucal con fuertes propiedades antibacterianas.
- 40 Sin embargo, no todas las bacterias que se presentan en la cavidad oral se relacionan con enfermedades y muchas promueven incluso la salud dental. Por lo tanto, resulta conveniente establecer un equilibrio dirigido a una composición saludable de la microbiota bucal en lugar de la erradicación no específica de bacterias residentes.
- 45 La microbiota oral normal resulta altamente compleja e incluye más de 700 especies bacterianas, así como arqueas, hongos, protozoos y virus. Se ha demostrado que los comensales de las encías inferiores, tales como lactobacilos y

bifidobacterias, presentan efectos beneficiosos para la salud intestinal, incluidas algunas propiedades antiinflamatorias, cuando se administran como probióticos.

5 La acción probiótica de las bacterias en la cavidad oral ha sido el objeto de algunas investigaciones, pero los resultados varían mucho con respecto a las especies que se utilizan, y los parámetros adecuados para una aplicación eficaz son difíciles de establecer debido a que la acción puede depender de efectos que no se relacionan en gran parte.

10 Entre las acciones probióticas, los efectos antibacterianos generales contra especies asociadas a enfermedades, la reducción o la prevención de la adhesión bacteriana a la superficie de los dientes, así como los efectos se han analizado en la literatura.

El documento EP 2420580 A1 se refiere a una composición que comprende una cantidad eficaz de cepa de *Lactobacillus plantarum* CECT 7481 y cepa de *Lactobacillus brevis* CECT 7480, el uso de dicha composición como probiótico y/o medicamento para aplicaciones de salud bucal así como productos que contienen dicha composición.

15 El documento JP 2014-000039 A se refiere a un lactobacilo para la prevención de caries, la prevención o el tratamiento de enfermedad periodontal, la mejora o la prevención del mal aliento y la supresión de la formación de biopelículas en la cavidad oral en momentos normales (en ocasiones que no transcurran durante la alimentación), o un cultivo y un sobrenadante de cultivo de este lactobacilo, sus productos neutralizados, una composición que contiene estos y similares. El lactobacilo es uno que se selecciona a partir de cepas de *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei*, *Enterococcus avium* y *Enterococcus durans*.

20 El documento WO 2014/140080 A1 se refiere a preparaciones bacterianas de *Lactobacillus plantarum* NCC 2936 (CNCM I-4026) y una composición para su uso en la mejora de la salud bucal que comprende una preparación bacteriana de *Lactobacillus plantarum* NCC 2936.

25 El documento US 2014/023620 A1 se refiere a composiciones probióticas que comprenden una mezcla de al menos dos bacterias probióticas, incluyendo *Streptococcus salivarius* K12® (BLIS K12®), tales como *Streptococcus salivarius* K12® (BLIS K12®) BAA1024, y al menos una bacteria *Lactobacillus*, tal como una que se selecciona a partir de aquellas que resultan adecuadas, según se conoce, para la administración oral, p. ej., aquellas que, según se conoce, mejoran la salud del receptor, particularmente, la salud bucal del receptor.

30 El documento WO 2010/064373 A1 se refiere a un inhibidor de IL-8 para la inhibición de la producción de IL-8, que comprende un sobrenadante de cultivo de una bacteria de ácido láctico de origen vegetal que transporta el gen de ARNr 16S que comprende una secuencia de nucleótidos que se representa en una cualquiera de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 4 o un extracto del sobrenadante de cultivo.

35 El documento DE 202009011379 U1 se refiere a dentífricos que contienen probióticos y preparaciones para el cuidado bucal que contienen cultivos probióticos a partir del grupo que comprende *Bacilli*, *Actinobacteria*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus para casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus lactis*, *Leuc. Mesenteroides*, *Ped. Acidilactici*, *Sporolactobacillus inulinus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Propionibacterium freudenreichii* y *Saccharomyces cerevisiae*.

40 Sin embargo, se conoce poco sobre la influencia de cepas probióticas específicas en los mecanismos inflamatorios, en particular, con respecto a la supresión de diferentes mediadores inflamatorios. De manera sorprendente, se ha descubierto en las extensas investigaciones que condujeron a la presente invención, que algunas cepas de bacterias probióticas reconocidas de manera general pueden mejorar también la liberación de factores proinflamatorios en determinadas dosis. Por lo tanto, permanece la necesidad insatisfecha de contar con nuevas cepas que exhiban un efecto conveniente en mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios de la inflamación.

Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar una nueva cepa bacteriana y composiciones de esta que pueden ser utilizadas en medicina, de manera especial, en el tratamiento y/o la prevención de inflamación, tal como en la cavidad oral, en particular, en el tratamiento y/o la prevención de gingivitis y/o periodontitis.

50 Un objeto adicional de la presente invención consiste en proporcionar una nueva cepa bacteriana y composiciones de esta que resultan capaces de reducir o inhibir la liberación de uno o más factores inflamatorios, tales como interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral (TNF), prostaglandina E2 (PGE2), isoprostanos, metalopeptidasa de matriz 9 (MMP9) y NF-κB.

55 El objeto de la presente invención se cumple mediante la provisión de cepa de *Lactobacillus plantarum* GOS 42, que se depositó por Probi AB de Sölvegatan 41, 22370 Lund, Suecia en Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Inhoffenstr. 7 B, D-38124 Braunschweig, de acuerdo con los requisitos del Tratado de Budapest, el 2 de septiembre de 2015 y que ha recibido el número de acceso de depósito DSM 32131, y las composiciones de esta.

- La cepa de la invención se aisló a partir de la saliva de voluntarios humanos sanos y se seleccionó a partir de entre más de 50 cepas probióticas candidatas, incluidas las cepas de *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus LAFT1*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus* y *Lactococcus lactis*.
- Mediante evaluaciones exhaustivas, se ha identificado que la cepa bacteriana de acuerdo con la invención exhibe actividad moduladora diferente, principalmente de una manera inhibidora contra la liberación de determinados factores proinflamatorios mientras que, al mismo tiempo, no mejora la liberación de otros factores proinflamatorios o solo lo hace de manera insignificante. La presente invención permite ahora un uso optimizado de una cepa bacteriana probiótica para la prevención y/o el tratamiento de afecciones inflamatorias, de manera especial, aquellas que ocurren en la cavidad oral, lo que no ha sido posible antes.
- Según se explicó anteriormente, la colonización de la mucosa bucal por bacterias relacionadas con enfermedades y la formación de placa pueden inclinar el equilibrio microbiano en la cavidad oral hacia una acumulación de microorganismos perjudiciales, lo que se conoce también como disbiosis. Por lo tanto, el microorganismo para su uso en la prevención y/o el tratamiento de inflamación en la cavidad oral de acuerdo con la invención incluye el uso en la prevención y/o el tratamiento de placa y enfermedades relacionadas con placas y contribuye, de manera ventajosa, a evitar la disbiosis oral al equilibrar la flora bucal hacia un estado saludable.
- En una realización preferente de la presente invención, el microorganismo que se describe anteriormente se encuentra atenuado o muerto, preferentemente, inactivado por calor, de manera ideal, mediante incubación durante 2 a 8 minutos a una temperatura entre 70 °C y 100 °C.
- En los estudios que se describen a continuación se ha demostrado que el microorganismo de acuerdo con la invención puede proporcionar efectos inhibidores en la liberación de factores proinflamatorios, incluso en un estado inactivado. Por lo tanto, resulta posible también el uso de la nueva cepa cuando se encuentra muerta o inactivada por calor. De manera sorprendente, las cepas inactivadas por calor pueden mostrar la misma actividad antiinflamatoria, o incluso ligeramente mejorada, hacia determinados factores.
- En un aspecto, la presente invención se refiere al microorganismo que se menciona anteriormente para su uso como agente antiinflamatorio, de manera especial, para reducir o inhibir la liberación de uno o más factores inflamatorios que se seleccionan a partir del grupo que consiste en interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral (TNF), prostaglandina E2 (PGE2), isoprostanos, metalopeptidasa de matriz 9 (MMP9) y NF- κ B.
- De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, los fragmentos de la cepa nueva de microorganismos según se define en cualquiera de los aspectos que se describen anteriormente se pueden utilizar en el tratamiento y/o la prevención de inflamación, de manera especial, en la cavidad oral, y preferentemente, en el tratamiento y/o la prevención de gingivitis y/o periodontitis.
- Puede que no resulte necesario utilizar células completas de la cepa nueva de la invención ya que las mezclas que comprenden solo fragmentos (p. ej., restos de células degradadas) de los microorganismos resultan suficientes para proporcionar los efectos inventivos.
- En un aspecto adicional, la presente invención se refiere, además, a una composición farmacéutica, que comprende *Lactobacillus plantarum* GOS 42 o fragmentos de este y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. La cantidad total del microorganismo o fragmentos de este resulta preferentemente suficiente para tratar y/o prevenir inflamación, de manera especial, en la cavidad oral, preferentemente para tratar y/o prevenir gingivitis y/o periodontitis. Preferentemente, la cantidad total del microorganismo o fragmentos de este se encuentra en el intervalo del 0,01 % al 100 %, más preferentemente, en el intervalo del 0,1 % al 50 %, de mayor preferencia, en el intervalo del 1 % al 10 %, en cada caso con respecto al peso total de la composición, y/o en la que la cantidad total de microorganismos o fragmentos de estos se encuentra en el intervalo de 1×10^3 a 1×10^{11} unidades formadoras de colonias (CFU), más preferentemente, en el intervalo de 1×10^5 a 1×10^{10} CFU y, de manera ideal, de 1×10^8 a 1×10^9 CFU.
- En una realización preferente, el microorganismo (bacteria) de la invención se encuentra presente en una composición a una concentración de aproximadamente 1×10^3 a 1×10^{14} unidades formadoras de colonias (CFU) por gramo, preferentemente, de aproximadamente 1×10^5 a 1×10^{12} CFU/gramo, mientras que en otras realizaciones, las concentraciones son aproximadamente de 1×10^9 a 1×10^{13} CFU/gramo, de aproximadamente 1×10^5 a 1×10^7 CFU/gramo, o de aproximadamente 1×10^8 a 1×10^9 CFU/gramo. Sin embargo, se debería apreciar que lo más importante es la CFU global en lugar de la concentración.
- En una realización, la bacteria de la invención se encuentra en un vehículo o producto alimenticio farmacéuticamente aceptable, adecuado para la administración oral a mamíferos, preferentemente, como un complemento alimenticio en polvo, una formulación granulada o una formulación líquida. El mamífero es preferentemente un ser humano.

El experto en la técnica sabe que el organismo probiótico que se utiliza en una composición o producto de acuerdo con la invención representa material biológico cuya actividad puede variar con el lote y depende además del procedimiento de producción o procesamiento. Por lo tanto, la cantidad adecuada se puede ajustar de acuerdo con esto en el intervalo dado.

Además, la presente invención se refiere a una composición o producto según se describe anteriormente para su uso en medicina, preferentemente en el tratamiento y/o prevención de inflamación, de manera especial, en la cavidad oral, y de mayor preferencia, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de gingivitis y/o periodontitis.

Una composición de acuerdo con la invención puede comprender además uno o más componentes que se seleccionan a partir del grupo que consiste en vehículos, excipientes o principios activos adicionales, tales como, por ejemplo, agentes activos a partir del grupo de antiflogísticos no esteroideos, antibióticos, esteroides, anticuerpos anti-TNF-alfa u otros agentes activos y/o sustancias producidos biotecnológicamente, así como analgésicos, dexpantenol, prednisolona, yoduro de polvidona, clorhexidina-bis-D-gluconato, hexetidina, bencidamina HCl, lidocaína, benzocaína, macrogol lauril éter, benzocaína en combinación con cloruro de cetidil piridinio o macrogol lauril éter en combinación con hemodializado sin proteínas de sangre de ternero, así como, por ejemplo, agentes de carga (p. ej., celulosa, carbonato cálcico), plastificantes o mejoradores de la fluidez (p. ej., talco, estereato de magnesio), recubrimientos (p. ej., ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxil propil metil celulosa), desintegrantes (p. ej., almidón, polivinilpirrolidona reticulante), suavizantes (p. ej., citrato de trietilo, ftalato de dibutilo) sustancias para granulación (lactosa, gelatina), retardo (p. ej., copolimerizados de éster de metil/etil/2-trimetilaminometilo de ácido poli(met)acrílico en dispersión, copolimerizados de acetato de vinilo/ácido crotónico), compactación (p. ej., celulosa microcristalina, lactosa), disolventes, agentes de suspensión o dispersión (p. ej., agua, etanol), emulsionantes (p. ej., alcohol cetílico, lecitina), sustancias para modificar las propiedades reológicas (sílice, alginato de sodio), sustancias para la estabilización microbiana (p. ej., cloruro de benzalconio, sorbato de potasio), conservantes y antioxidantes (p. ej., DL-alfa-tocoferol, ácido ascórbico) sustancias para modificar el pH (ácido láctico, ácido cítrico), agentes de expansión o gases inertes (p. ej., hidrocarburos clorados fluorados, dióxido de carbono), colorantes (óxido de hierro, óxido de titanio), ingredientes básicos para ungüentos (p. ej., parafinas, cera de abejas) y otros según se describe en la literatura (p. ej., en Schmidt, Christin. *Wirk- und Hilfsstoffe für Rezeptur, Defektur und Großherstellung*. 1999; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart oder Bauer, Frömming Führer. *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*. 8. Auflage, 2006. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart).

Una composición o producto de acuerdo con la presente invención se puede recubrir o encapsular también.

La encapsulación de una composición de acuerdo con la invención puede presentar la ventaja de permitir una liberación controlada, por ejemplo al entrar en contacto con el agua, o una liberación continua durante un período de tiempo prolongado. Además, la composición se puede proteger contra la degradación mediante la mejora de la vida útil del producto. Los procedimientos de encapsulación de ingredientes activos se conocen bien en la técnica y se encuentran disponibles un número de materiales de encapsulación, así como procedimientos de aplicación en una composición de acuerdo con los requisitos específicos.

Además, una composición o producto de acuerdo con la invención puede encontrarse en forma de solución, suspensión, emulsión, comprimidos, gránulos, polvo o cápsulas.

La composición o producto de acuerdo con la invención se puede seleccionar a partir del grupo que consiste en pasta dentífrica, gel de dientes, polvo de dientes, líquido de limpieza de dientes, espuma de limpieza de dientes, enjuague bucal, pulverizador bucal, hilo dental, goma de mascar y pastillas.

Tales composiciones o productos pueden contener sistemas abrasivos (componentes abrasivos y/o pulidores) tales como silicatos, carbonato cálcico, fosfato de aluminio y/o apatita de hidroxilo, tensioactivos, tales como, p. ej., lauril sulfato de sodio, lauril sarcosinato de sodio y/o cocamidopropil betaína, humectantes, tales como glicerol y/o sorbitol, agentes espesantes, p. ej. carboximetilcelulosa, polietilenglicoles, carragenanos y/o Laponite®, edulcorantes, tales como sacarina, agentes que corrigen el aroma y el sabor para impresiones de sabor desagradables, sustancias que modifican el sabor (p. ej., fosfato de inositol, nucleótidos, p. ej., monofosfato de guanosina, monofosfato de adenosina y otras sustancias, p. ej. glutamato de sodio o ácido 2-fenoxipropiónico), agentes refrescantes, tales como derivados del mentol (p. ej., lactato de lmentilo, L-mentil alquil carbonato, mentona cetales), icilina y derivados de icilina, estabilizadores y agentes activos tales como fluoruro de sodio, difluoruro de sodio, difluoruro de estaño, fluoruros de amonio cuaternario, citrato de zinc, sulfato de zinc, pirofosfato de estaño, dicloruro de estaño, mezclas de diferentes pirofosfatos, triclosano, cloruro de cetilpiridinio, lactato de aluminio, citrato de potasio, nitrato de potasio, cloruro de potasio, cloruro de estroncio, peróxido de hidrógeno, sustancias aromáticas, bicarbonato de sodio y/o agentes correctores de olores.

Las gomas de mascar o las gomas de mascar para el cuidado dental pueden comprender una base de goma de mascar que comprende elastómeros, p. ej., acetato de polivinilo (PVA), polietileno, poliisobutano (PIB) (de bajo o medio peso molecular), polibutadieno, copolímeros de isobuteno/isopreno, polivinil etil éter (PVE), polivinil butil éter, copolímeros de ésteres vinílicos y éteres vinílicos, copolímeros de estireno/butadieno (SBR) o elastómeros de vinilo, p. ej., en base a acetato de vinilo/laurato de vinilo, acetato de vinilo/estearato de vinilo o etileno/acetato de vinilo y mezclas de los elastómeros que se mencionan como p. ej., el ejemplo que se describe en EP 0 242 325, US 4,518,615, US 5,093,136, US 5,266,336 US 5,601,858 o US 6,986,709. De manera humectante, las bases de goma de

mascar pueden contener otros ingredientes, p. ej., cargas (minerales), p. ej. carbonato de calcio, dióxido de titanio, dióxido de silicón, talco, óxido de aluminio, fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, hidróxido de magnesio y mezclas de estos, plastificantes (p. ej., lanolina, ácido esteárico, estearato de sodio, acetato de etilo, diacetina (diacetato de glicerol), triacetina (triacetato de glicerol) y citrato de trietilo), emulsionantes (p. ej., fosfátidos, tales como lecitina y mono y diglicéridos de ácidos grasos, p. ej., monoestearato de glicerol), antioxidantes, ceras (p. ej., ceras de parafina, ceras de candelilla, ceras de carnauba, ceras microcristalinas y ceras de polietileno), grasas o aceites grasos (p. ej., grasas vegetales o animales endurecidas (hidrogenadas)) y mono, di o triglicéridos.

Breve descripción de las figuras:

La **Figura 1** muestra los efectos antiinflamatorios de *Lactobacillus plantarum* GOS 42 (DSM 32131) en monocitos primarios humanos en interleucina 1 beta (**A**), interleucina 6 (**B**), interleucina 8 (**C**), prostaglandina E2 (**D**), factor de necrosis tumoral alfa (**E**) e isoprostano (**F**). La columna de la izquierda se refiere a las células sin tratar, la columna de la derecha, a las células atenuadas.

La **Figura 2** muestra los efectos antiinflamatorios de *Lactobacillus plantarum* GOS 42 (DSM 32131) en forma atenuada en interleucina en fibroblastos gingivales humanos. La columna de la izquierda se refiere a la interleucina 6, la columna de la derecha, a la interleucina 8.

Los siguientes ejemplos se agregan para ilustrar la presente invención sin estar dirigidos a limitar el alcance.

Ejemplo 1: establecimiento del cultivo y manejo de cepas probióticas

La cepa de la invención se seleccionó a partir de entre más de 50 cepas probióticas candidatas, incluidas cepas de *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus LAFTI*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus* y *Lactococcus lactis*.

Con el fin de identificar las condiciones óptimas de crecimiento y los puntos de recolección y determinar las unidades formadoras de colonias (CFU) para las bacterias probióticas para evaluar, en primer lugar, se determinaron la fase logarítmica y el final de la fase de crecimiento.

Crecimiento bacteriano

Las reservas probióticas congeladas (-80 °C) se descongelaron durante la noche a 4 °C y se agregaron 6 ml de solución estéril de NaCl al 9 % a los 1,2 ml de bacterias a la mañana siguiente. Las muestras se centrifugaron (5 min, 5000 r.p.m.), se descartó el sobrenadante, el sedimento se lavó con 8 ml de NaCl al 9 % y se centrifugó de nuevo durante 5 min a 5000 r.p.m. Luego, el sedimento se resuspendió en 1,2 ml de NaCl al 9 % y 1 ml de la muestra se agregó a 50 ml de medio caliente a 37 °C (MRS Bouillon, Carl Roth KG, Karlsruhe) y se incubó a 37 °C. Las incubaciones se realizaron en un tubo de polipropileno estéril de 50 ml (Greiner) y las sondas se recolectaron en diferentes puntos de tiempo para evaluar la curva de crecimiento.

Determinación de OD

Para la determinación de OD, se retiraron 50 µl de la suspensión bacteriana y se diluyeron en 1 ml de MRS Bouillon en una cubeta de 1,5 ml-PS (marca). La determinación de OD se realizó a 600 nm (ThermoScientific, Helios Epsilon) 1,5 ml de MRS Bouillon se utilizó como blanco.

Determinación de CFU

Para la determinación de CFU, las bacterias se diluyeron (1:10.000.000, 1:50.000.000 y 1:100.000.000), se colocaron en placas de agar MRS (Agar MRS, X924, Carl Roth) y se incubaron durante 2 días a 37 °C. Luego se contaron las colonias desarrolladas y se calculó la CFU.

Las bacterias se acercaron a la fase logarítmica desde el principio hasta las 7 u 8 horas cuando comenzaron a alcanzar la fase de meseta. La cantidad de bacterias para cultivar no cambia la forma de la curva. El punto de la fase de crecimiento más empinada se eligió como las 5 horas para recolectar las bacterias en la fase logarítmica y las 7 horas para recolectarlas al final de la fase logarítmica.

Ejemplo 2: establecimiento de la estimulación de monocitos humanos con probióticos

La estimulación de los cultivos de células de monocitos con la cepa nueva de probióticos se estableció mediante el uso de cepas obtenidas en forma de polvo. En primer lugar, se analizaron varias formas de aplicación, tales como el uso de bacterias desarrolladas (que se toman de la fase logarítmica), el sobrenadante de los cultivos bacterianos desarrollados, la aplicación directa del polvo disuelto y el sobrenadante del polvo. De acuerdo con los resultados, las bacterias al final de la fase logarítmica se sometieron a prueba con dos lotes de la cepa congelada. En lugar de

utilizar los sobrenadantes, se estableció la inactivación por calor de estas dos cepas y se compararon las bacterias inactivadas con las bacterias activadas.

Medición de citocina: MMP-9 y PGE2 en monocitos humanos primarios

- 5 Se aislaron monocitos primarios humanos a partir de capas leucocíticas de donantes de sangre humanos sanos. Las células se cultivaron en placas de 24 pocillos para experimentos ELISA. Las células se incubaron con LPS durante 24 h. Se agregaron los probióticos (5 dosis) 30 min antes del tratamiento con LPS. Después de 24 h, se retiraron los sobrenadantes, se centrifugaron y se investigaron para determinar la presencia de concentraciones de IL-1beta, TNFalfa, IL-6, IL-8, MMP-9, isoprostano-8 y PGE₂ en EIA (PGE₂, de AssayDesign, isoprostano, de Cayman) o ELISA
- 10 (todas las citocinas, Immunotools, MMP-9, GE Healthcare) mediante el uso del protocolo del fabricante. Cada dosis se investigó de 2 a 3 veces en dos capas leucocíticas de 2 donantes diferentes.

En primer lugar, se sometieron a prueba diferentes tipos de preparaciones probióticas en polvo liofilizado para la estimulación de monocitos humanos.

- 15 Los probióticos se recolectaron y luego se centrifugaron. Las células se disolvieron en medio fresco y se aplicaron a los monocitos humanos.

Luego, se incubaron los monocitos con los probióticos durante 30 minutos, luego se agregó LPS y después de 24 horas, se retiró el sobrenadante y se utilizaron para la determinación de los parámetros inflamatorios.

Ejemplo 3: prueba de cepas inactivadas por calor

Establecimiento de inactivación por calor

- 20 Se estableció la inactivación por calor para dos lotes. Al final de la fase logarítmica del crecimiento bacteriano, se retiró una alícuota de la suspensión bacteriana, se agregó a un tubo nuevo de 50 ml y se incubó durante 5 min a 80 °C en un baño de agua. 5 minutos a 80 °C inactivaron las bacterias y detuvieron, de este modo, su crecimiento.

- Al someter a prueba los lotes inactivados por calor de la cepa, se encontró que los efectos potenciadores en IL-1 y TNF no resultaron afectados por el tratamiento térmico. Además, la activación térmica no afectó la inhibición de PGE2 por ambas cepas, o solo lo hizo ligeramente.
- 25

Ejemplo 4: evaluación de los probióticos en monocitos humanos y efectos en la activación de NF-kappaB

Se evaluaron diversas cepas probióticas en su forma activada y atenuada (forma inactivada por calor) en monocitos primarios humanos inducidos por LPS (lo que determina IL-1beta, IL-6, IL-8, TNFalfa, PGE2, 8-isoprostano y MMP-9).

En la Figura 1 se proporciona un patrón antiinflamatorio común de la nueva cepa de acuerdo con los ejemplos 1 a 4.

- 30 Los experimentos para someter a prueba los efectos en la activación de NF-kappaB inducida por fibroblastos de TNFin NIH-3T3 se realizaron en una línea celular de fibroblastos que contenía transfectada de manera estable el impulso del gen de luciferasa por un promotor dependiente de NF-kappaB. Las células se estimularon con TNF en presencia o ausencia de probióticos. Después de 6 h de estimulación, las células se lisaron y la actividad de luciferasa se midió en un luminómetro.

Ejemplo 5: evaluación de probióticos seleccionados en fibroblastos gingivales humanos

- La cepa seleccionada de la invención se aplicó a fibroblastos gingivales humanos. Los cultivos de fibroblastos se mantuvieron según se describe en el protocolo del fabricante. Antes de la estimulación, las células se cultivan en placas de 24 pocillos para experimentos de ELISA. Las células se incubaron sin (control no estimulado) o con IL-1beta durante 24 h. Los probióticos (5 dosis, dependiendo del resultado de los ensayos de evaluación) se agregan 30 minutos antes del tratamiento con IL-1. Después de 24 h, los sobrenadantes se retiran, centrifugan e investigan para concentraciones de IL-6, IL-8, isoprostano y PGE2 en EIA (PGE2, de AssayDesign, isoprostano de Cayman) o ELISA (IL-6, IL-8, Immunotools), mediante el uso del protocolo del fabricante. Cada dosis se investigó al menos de 2 a 3 veces. Las cepas mostraron algunos efectos inhibidores de IL-6.
- 40

En la Figura 2 se proporciona un patrón antiinflamatorio de la cepa de acuerdo con el Ejemplo 5.

Ejemplo 6: Comprimido o pastilla de probióticos

Nro.	Bloque	Ingredientes	Comprimidos de isomalto		
			Placebo	Solo probiótico	+ sabor
1	A	Estearato de magnesio	1,800 %	1,800 %	1,800 %

(continuación)

Nro.	Bloque	Ingredientes	Comprimidos de isomalto		
			Placebo	Solo probiótico	+ sabor
2		Acesulfamo	0,050 %	0,050 %	0,050 %
3		Sucralosa	0,025 %	0,025 %	0,025 %
4		Material probiótico		1,000 %	1,000 %
5		Sabor (p. ej., Menta Optamint 134229 s/d)			0,500 %
6	B	Isomalto	98,125 %	97,125 %	96,625 %
		Suma total	100,00 %	100,00 %	100,00 %

Procedimiento de producción:

- 5 • los componentes 1 y 6 se secan en un secador de compartimento al vacío a 50 °C y una presión de como máx. 10 mbar durante 16 horas
- todos los componentes presentan un peso exacto
- los componentes 1, 2, 3, 4 y 5 combinados y mezclados a fondo (bloque A). El material probiótico se aplica en forma liofilizada que presenta una actividad de aproximadamente 10^5 a 10^{12} unidades formadoras de colonias (CFU) por gramo.
- 10 • Posteriormente se agrega el bloque A al componente 6 y se mezcla a fondo durante 5 minutos
- la mezcla en polvo se comprime en comprimidos en una prensa para comprimidos EK0 (Korsch AG, Berlín) a una presión ajustada de 15 kN a 20 kN
- parámetros de destino:
 - o diámetro del comprimido: 20 mm
 - 15 o peso del comprimido: 2,0 g
- almacenamiento a RT en sobres de aluminio sellados. Por 5 pastillas, se utiliza 1 g de desecante para la deshumidificación (activado por 3 h de almacenamiento a 105 °C en un secador de compartimento al vacío)

Ejemplo 7: dentífrico en polvo

Nro.	Bloque	Ingredientes	Polvo de dientes		
			Placebo	Solo probiótico	+ sabor
1	A	Carbonato de magnesio	3,00 %	3,00 %	3,00 %
2		Bicarbonato de sodio	2,00 %	2,00 %	2,00 %
3		Floruro de sodio	0,25 %	0,25 %	0,25 %
4		Sacarina de sodio	0,60 %	0,60 %	0,60 %
5	B	Material probiótico		4,00 %	4,00 %
6		Sabor (p. ej., Menta Optamint 134229 s/d)			2,00 %
7	c	Carbonato de calcio	94,15 %	90,15 %	88,15 %

(continuación)

Nro.	Bloque	Ingredientes	Polvo de dientes		
			Placebo	Solo probiótico	+ sabor
		Suma total	100,00 %	100,00 %	100,00 %

Procedimiento de producción:

- 5 el componente 7 se seca en un secador de compartimento al vacío a 50 °C y una presión de como máx. 10 mbar durante 16 horas
- todos los componentes presentan un peso exacto
- los componentes 1, 2, 3, 4 se combinan y se mezclan a fondo (bloque A)
- 10 los componentes 5 y 6 se combinan y se mezclan a fondo (bloque B). El material probiótico se aplica en forma liofilizada que presenta una actividad de aproximadamente 10^5 a 10^{12} unidades formadoras de colonias (CFU) por gramo.
- Posteriormente los bloques A y B se combinan y se mezclan a fondo
- la mezcla se agrega al componente 7 y se mezcla a fondo durante 5 minutos
- 15 la mezcla en polvo se prepara en porciones de 0,5 g, cada almacenamiento a RT junto con 1 g de desecante por porción (activado por 3 horas de almacenamiento a 105 °C en un secador de compartimento al vacío) en sobres de aluminio sellados

Ejemplo 8: dentífrico en polvo

Nro.	Bloque	Ingredientes	Comprimidos de pasta dentífrica
1	A	Carbonato de magnesio	3,00 %
2		Bicarbonato de sodio	2,00 %
3		Floruro de sodio	0,25 %
4		Sacarina de sodio	0,60 %
5		Laurilsulfato sódico	0,50 %
6		Estearato de magnesio	1,00 %
7	B	Sabor (p. ej., Menta Optamint 134229 s/d)	2,00 %
8		Material probiótico	6,67 %
9	C	Carbonato de calcio	17,00 %
10		Celulosa microcristalina	66,98 %
		Suma total	100,00 %

Procedimiento de producción:

- 20 los componentes 6, 9 y 10 se secan en un secador de compartimento al vacío a 50 °C y una presión de como máx. 10 mbar durante 16 horas.
- todos los componentes presentan un peso exacto
- los componentes 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se combinan y se mezclan a fondo (bloque A)

- los componentes 7 y 8 se combinan y mezclan a fondo (bloque B). El material probiótico se aplica en forma liofilizada que presenta una actividad de aproximadamente 10^5 a 10^{12} unidades formadoras de colonias (CFU) por gramo.
- 5
- los bloques A y B se combinan posteriormente y se mezclan a fondo
 - los componentes 9 y 10 se combinan y se mezclan a fondo (bloque C)
 - las dos mezclas (bloque A/B y bloque C) se combinan y mezclan a fondo durante 5 minutos
 - la mezcla en polvo se comprime en comprimidos en una prensa para comprimidos EK0 (Korsch AG, Berlín) a una presión ajustada de 15 kN a 20 kN
- 10
- parámetros de destino
- o diámetro del comprimido: 9 mm
- o peso del comprimido: 0,3 g
- almacenamiento a RT en sobres de aluminio sellados. Por cada 3 comprimidos, se utiliza 1 g de desecante para la deshumidificación (activado por 3 h de almacenamiento a 105 °C en un secador de compartimento al vacío)

15 **Ejemplo 9: goma de mascar**

Nro.	Ingredientes	Goma de mascar con aceite vegetal, probióticos en el sabor		Goma de mascar con aceite vegetal, probióticos en el aceite	
1	Base de goma (p. ej., Geminis T)	30,00 %	Bloque A	30,00 %	Bloque A
2	Isomalto (en la presente memoria: isomalto ST-PF)	65,00 %	Bloque B	65,00 %	Bloque B
3	Sucralosa recubierta (10 % en cera)	1,00 %		1,00 %	
4	Lecitina de soja sin aceite (en la presente memoria: Emulpur IP)	0,30 %		0,30 %	
5	Aceite vegetal - triglicérido	1,60 %	Bloque C	1,60 %	Bloque C
6	Material probiótico	0,80 %	Bloque D	0,80 %	
7	Sabor (p. ej., Menta Optamint 203191)	1,30 %		1,30 %	Bloque D

Procedimiento de producción:

- el componente 2 se seca en un compartimento de secado al a 50 °C y una presión de como máx. 10 mbar durante 16 horas
- 20
- todos los componentes presentan un peso exacto
 - el componente 1 se temple a 45 °C-59 °C en una amasadora de laboratorio de goma de mascar con el calentamiento amasado hasta obtener una masa homogénea. La calefacción se encuentra encendida durante todo el procedimiento de mezcla.
- 25
- posteriormente se agregan los componentes 2, 3 y 4 y se amasan hasta que la mezcla se vuelve homogénea y el polvo ya no resulta visible
 - de acuerdo con la fórmula, el componente 6 se transforma en el componente 5 (bloque C) o en el componente 7 (bloque D). El material probiótico se aplica en forma liofilizada que presenta una actividad de aproximadamente 10^5 a 10^{12} unidades formadoras de colonias (CFU) por gramo. Los componentes se mezclan hasta obtener una suspensión uniforme.

- en primer lugar, se agrega el bloque C a la masa de goma de mascar y se vuelve a amasar hasta obtener una masa homogénea.
- 5 • por último, el bloque D se somete a procedimiento de acuerdo con esto. Después de la adición, la composición debe amasarse hasta obtener una masa de goma de mascar uniforme.
- la masa se saca de la mezcladora y se forma en minibarras mediante un rodillo de gofrado mediante el uso de gofrado de conjunto de “placas”
- 10 • almacenamiento a RT en sobres de aluminio sellados. Para 7 gomas de mascar se utiliza 1 g de desecante para la deshumidificación (activado por 3 horas de almacenamiento a 105 °C en un secador de compartimento al vacío)

Ejemplo 10: perlas de probióticos

componentes	perlas probióticas con carga baja, sin aroma, con coloración, con % en peso de goma gellan	perlas probióticas con carga baja, con aroma, con coloración, con % en peso de goma gellan	perlas probióticas con carga alta, sin aroma, sin coloración, sin goma gellan, % en peso alto de contenido de agua	perlas probióticas con carga alta, sin aroma, sin coloración, sin goma gellan, % en peso bajo de contenido de agua
Alginato	1,75	1,65	1,44	1,57
Gummi Arabicum	1,25	1,18	0,60	0,65
Fibra de trigo	1,125	1,06	0,52	0,52
Colorante	0,0125	0,018	-	-
Aroma	-	1,41	-	-
Glicerol	0,1875	-	-	-
probiótico	1,125	1,35	7,20	7,83
Goma gellan	0,0625	0,059	-	-
Agua	Agregar a 100	Agregar a 100	Agregar a 100	Agregar a 100
carga	aprox. 20 %	aprox. 20 %	aprox. 74 %	aprox. 74 %

Procedimiento de producción:

Producción del baño de cloruro de calcio para la precipitación de las perlas de alginato:

- 15 • se produce una solución de cloruro de calcio al 2 % a partir de agua destilada y cloruro de calcio. Se debe tener cuidado de que el CaCl_2 se encuentre completamente disuelto.

Producción de la solución de alginato (en lugar de alginato, se puede utilizar además pectina o goma gellan):

- en un recipiente de reacción con un agitador y que resulta adecuado con respecto al tamaño del lote, se suministra agua
- 20 • el agitador se enciende y, mientras se agita a un nivel alto, se agregan las cantidades respectivas de alginato, goma arábiga, trigo, fibra y probiótico, así como la goma gellan opcional requerida
- la mezcla se calienta a 80 °C mientras se agita y se mantiene a esta temperatura durante 5 minutos; durante esta etapa, los componentes que forman el gel se disuelven
- 25 • posteriormente, se apaga la calefacción y se agita la solución de gel caliente durante al menos 30 minutos hasta que esté libre de grumos

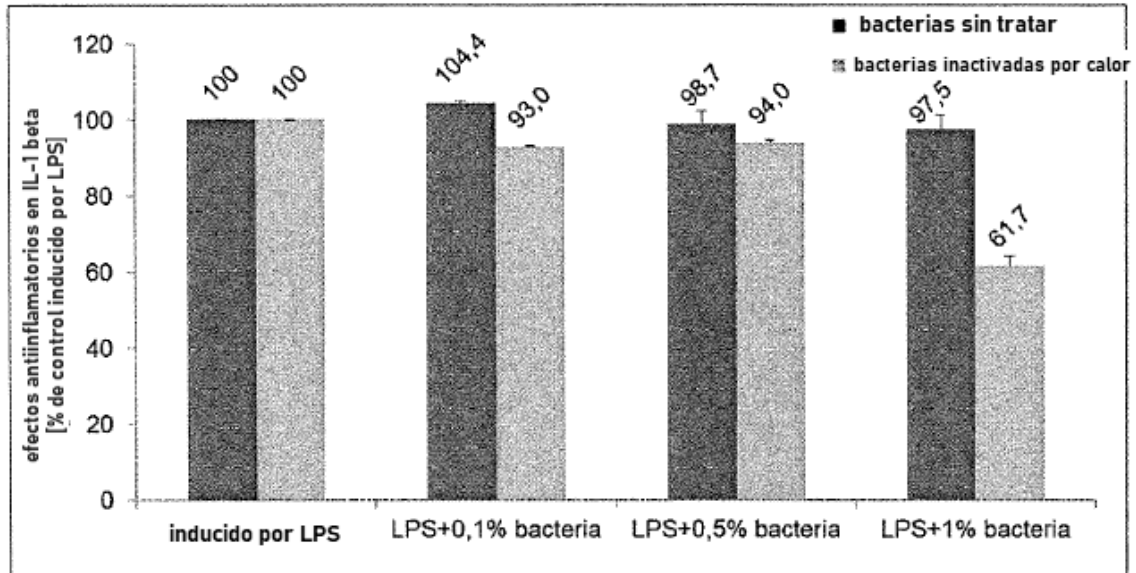
- posteriormente, la solución se enfría mediante refrigeración a 39 °C - 43 °C mientras se agita
 - en un recipiente adicional, se proporcionan el aroma y el colorante si es necesario y se mezclan a fondo. En caso de que no se utilice aroma, el colorante se mezcla con glicerol
- 5
- cuando la dispersión de colorante se mezcla de manera homogénea, se agrega al recipiente del lote con la solución de alginato. El recipiente de mezcla se lava varias veces con aprox. 10 % de la cantidad de solución de alginato que se utilizó de agua y que se agregó a la dispersión
 - la dispersión de alginato se agita de manera adicional durante al menos 5 minutos.
- 10
- Posteriormente, el lote se agita durante al menos 15 minutos a una velocidad más baja para retirar el aire potencialmente presente.
- Goteo de la solución de alginato en la solución de cloruro de calcio para la precipitación de las perlas:
- la dispersión de alginato se traslada a un recipiente de reacción estable a la presión, herméticamente cerrado, que presenta dos salidas. En una salida se aplica aire presurizado. La segunda salida conduce a las boquillas de la unidad de goteo a través de un tubo.
- 15
- el recipiente de reacción se temple en una placa de calentamiento para que la solución de alginato alcance una temperatura de aprox. 45 °C. La solución se agita ligeramente con un agitador magnético.
 - después de la aplicación de presión al recipiente de reacción, la solución de alginato se presiona hacia las boquillas, que se ajustan con respecto a la oscilación por un oscilador. Por adaptación de la presión y la frecuencia del oscilador, el tamaño de las gotas resultantes se puede ajustar en las puntas de las boquillas.
- 20
- las gotas de solución de alginato que se forman en las puntas de las boquillas caen en un recipiente de recolección en forma de embudo en el que circula la solución de cloruro de calcio preparada al principio.
 - las perlas de alginato curadas pasan con la solución de cloruro de calcio a través del embudo y se recolectan en un tamiz, la solución de cloruro de calcio recolectada se bombea de nuevo al embudo por debajo de la unidad de goteo y, por lo tanto, se recicla.
- 25
- las perlas se secan en un secador de lecho de flujo Aeromatic a una temperatura del aire de suministro de 80 °C hasta que se alcanza una temperatura del aire de salida de 45 °C

REIVINDICACIONES

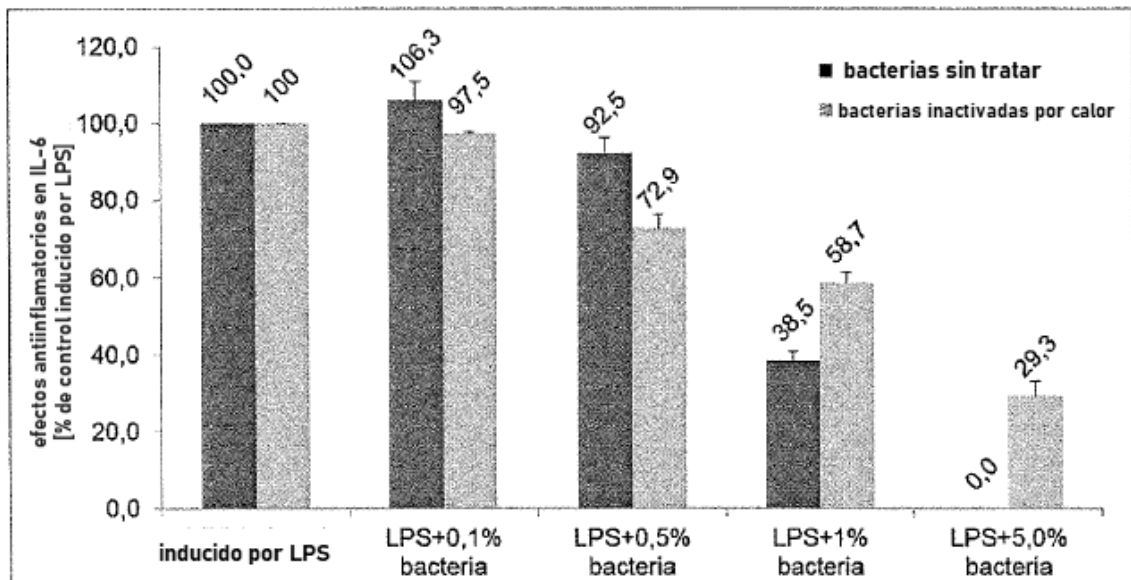
1. Una preparación aislada de un microorganismo que comprende o consiste en *Lactobacillus plantarum* GOS 42 (DSM 32131).
- 5 2. Una composición que comprende el microorganismo *Lactobacillus plantarum* GOS 42 (DSM 32131) junto con un vehículo, un excipiente y/o un diluyente.
3. Una preparación aislada de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el microorganismo se encuentra presente como células vegetativas y/o esporas.
- 10 4. Una preparación aislada de acuerdo con la reivindicación 1 o 3 o una composición de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en la que el microorganismo se encuentra atenuado o muerto.
5. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en la que la composición es una composición farmacéutica.
- 15 6. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en la que la cantidad total del microorganismo se encuentra en el intervalo del 0,01 % al 100 %, más preferentemente, en el intervalo del 0,1 % al 50 %, más preferentemente en el intervalo del 1 % al 10 %, en cada caso con respecto al peso total de la composición, y/o en la que la cantidad total del microorganismo se encuentra en el intervalo de 1×10^3 a 1×10^{11} unidades formadoras de colonias (CFU), más preferentemente, en el intervalo de 1×10^5 a 1×10^{10} CFU.
- 20 7. Una composición de acuerdo con la reivindicación 6, en la que la cantidad total de microorganismos se encuentra en el intervalo del 0,1 % al 50 % con respecto al peso total de la composición; y/o la cantidad total del microorganismo se encuentra en el intervalo de 1×10^5 a 1×10^{10} CFU.
8. Una composición de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la cantidad total de microorganismos se encuentra en el intervalo del 1 % al 10 % con respecto al peso total de la composición; y/o la cantidad total del microorganismo se encuentra en el intervalo de 1×10^8 a 1×10^9 CFU.
- 25 9. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en la que la composición está recubierta o encapsulada.
10. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en la que la composición está en forma de solución, suspensión, emulsión, comprimido, gránulo, polvo o cápsula.
- 30 11. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, en la que la composición se selecciona del grupo que consiste en pasta dentífrica, gel de dientes, polvo de dientes, líquido de limpieza de dientes, espuma de limpieza de dientes, enjuague bucal, pulverizador bucal, hilo dental, goma de mascar y pastillas.
12. Una composición de acuerdo una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en la que la composición comprende un alimento para animales y/o un componente de bebida.
13. Una preparación o composición aislada de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en medicina.
- 35 14. Una preparación o composición aislada para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que el uso en medicina consiste en el tratamiento y/o la prevención de inflamación.
- 40 15. Una preparación o composición aislada para su uso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en la que el uso en medicina consiste en reducir y/o inhibir la liberación de uno o más factores inflamatorios seleccionados a partir del grupo que consiste en interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral (TNF), prostaglandina E2 (PGE2), isoprostanos, metalopeptidasa de matriz 9 (MMP9) y NF- κ B.

Figura 1

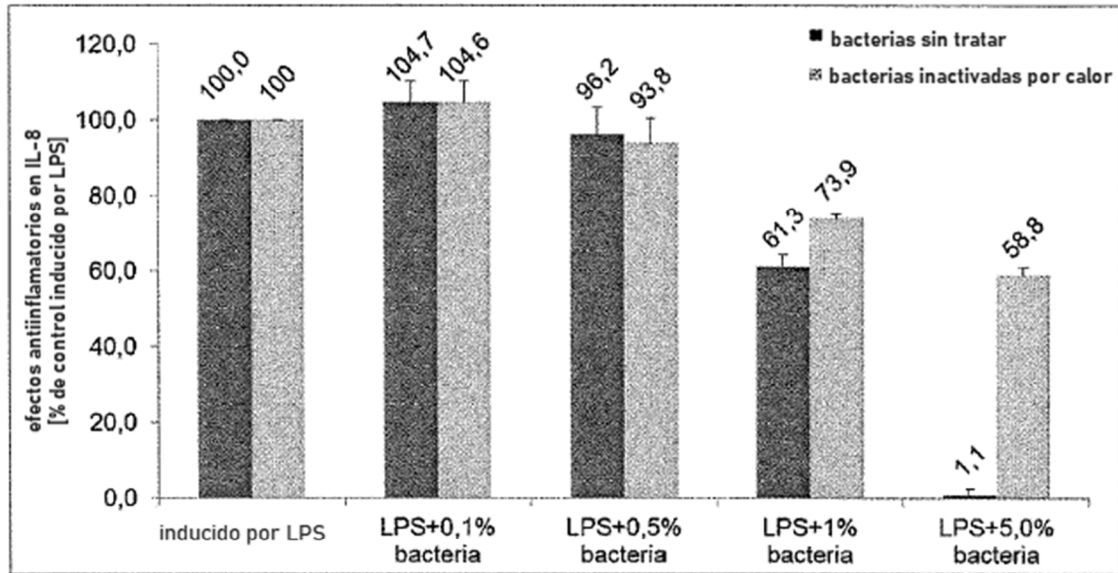
(A)



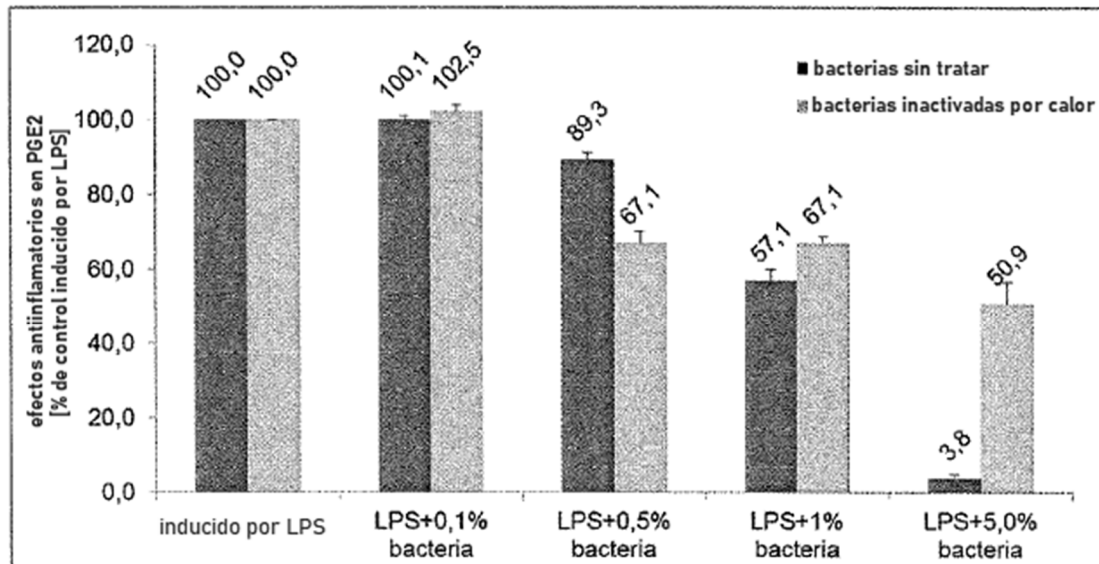
(B)



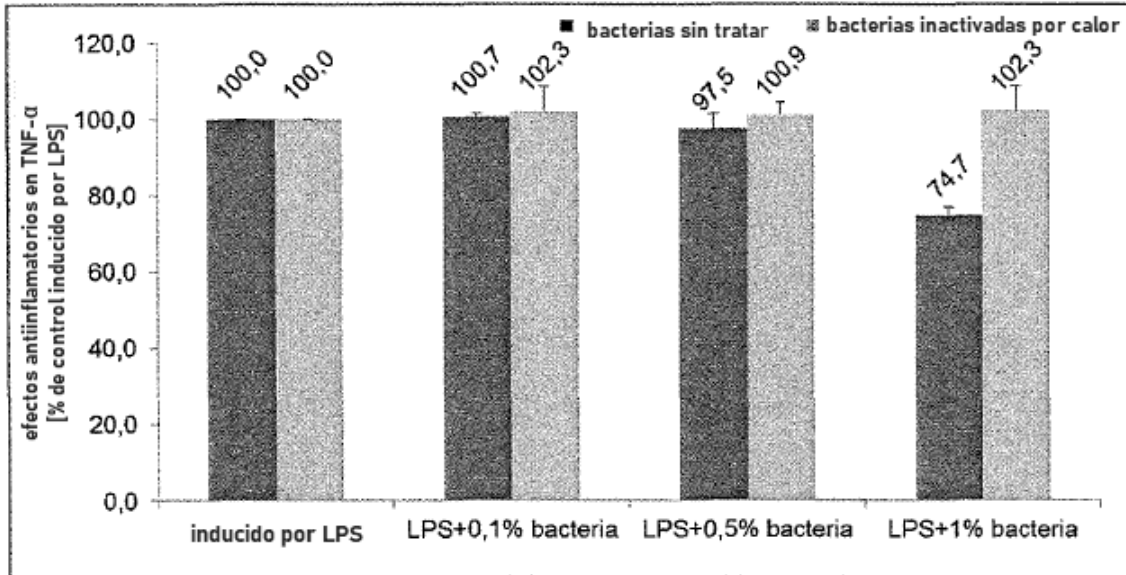
(C)



(D)



(E)



(F)

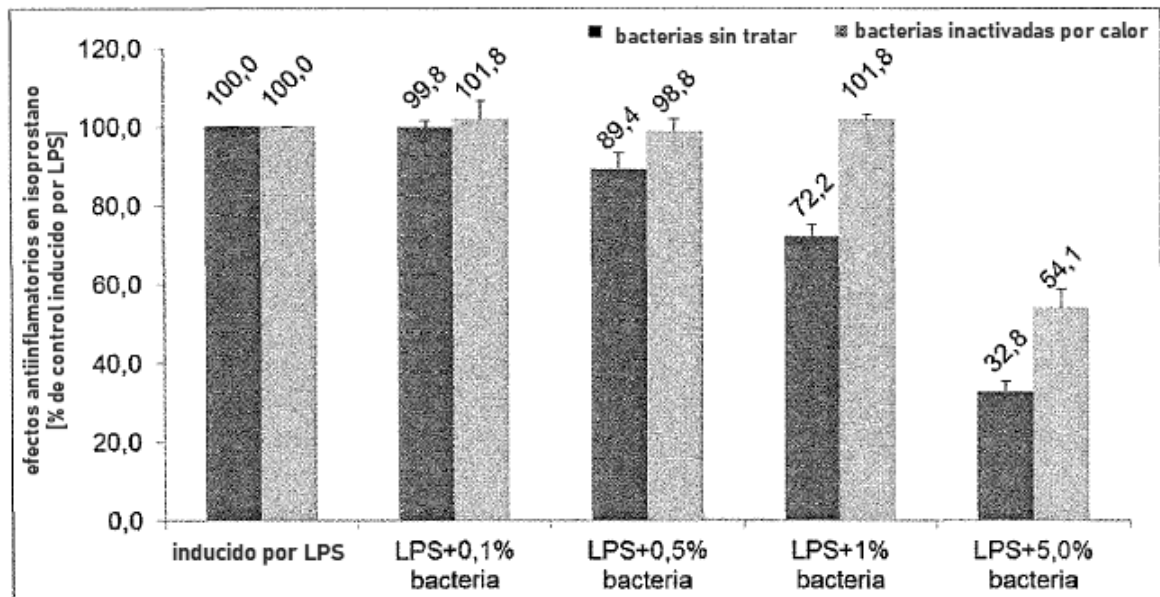


Figura 2

