

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 987 655**

51 Int. Cl.:

**A61K 35/742** (2015.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA LIMITADA

T7

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.04.2017 PCT/GB2017/051083**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2017 WO17182796**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2017 E 17720211 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras limitación: **08.01.2025 EP 3445380**

54 Título: **Bacterioterapia**

30 Prioridad:

**19.04.2016 GB 201606801**

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

**29.04.2025**

73 Titular/es:

**GENOME RESEARCH LIMITED (100.00%)  
Wellcome Sanger Institute, Wellcome Genome  
Campus  
Hinxton, Saffron Walden CB10 1SA, GB**

72 Inventor/es:

**NEVILLE, ANNE;  
BROWNE, HILARY;  
FORSTER, SAM y  
LAWLEY, TREVOR**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 987 655 T7

## DESCRIPCIÓN

Bacterioterapia

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones terapéuticas que comprenden al menos una bacteria aislada según se define en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable, así como a métodos para preparar estas composiciones terapéuticas. Las composiciones terapéuticas encuentran aplicación en el tratamiento de la disbiosis, en particular disbiosis del tracto gastrointestinal. La disbiosis puede ser una disbiosis asociada con una infección bacteriana entérica, una enteropatía inflamatoria, reservoritis, síndrome del intestino irritable, una enfermedad metabólica, un trastorno neuropsiquiátrico, una enfermedad autoinmunitaria, un trastorno alérgico, un cáncer o encefalopatía hepática.

**Antecedentes de la invención**

Una microbiota intestinal humana típica contiene 100-1000 especies de bacterias. Existe una gran diversidad compositiva entre individuos, de modo que la microbiota de cada individuo es única como una huella dactilar (Qin, Li y cols. 2010; Nielsen, Almeida y cols. 2014). La mayoría de las especies de bacterias dentro de la microbiota de un ser humano adulto se derivan de cuatro clasificaciones taxonómicas de alto nivel o filos, las Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria y Proteobacteria. Estos grupos cambian en abundancia del nacimiento a la edad adulta a la vejez, reflejando influencias ambientales cambiantes tales como el modo inicial del parto, la dieta, agresiones tales como una infección por patógenos y en muchos casos utilización de antibióticos (Domínguez-Bello, Costello y cols. 2010, Koenig, Spor y cols. 2011, Ottman, Smidt y cols. 2012). En la edad adulta, la microbiota intestinal está dominada por las Firmicutes y las Bacteroidetes, ambas de las cuales son anaerobios estrictos.

La microbiota intestinal representa un papel clave en la digestión de alimentos inaccesibles para el tracto gastrointestinal humano, tales como la metabolización de carbohidratos en ácidos grasos de cadena corta (Sekirov, Russell y cols. 2010), la interacción con el sistema inmunitario para mantener la homeostasis (Hooper, Littman y cols. 2012), la promoción de la maduración del intestino (Hooper, Wong y cols. 2001) y el desarrollo del sistema inmunitario. La microbiota intestinal también representa un papel importante en la resistencia frente a la invasión de patógenos, denominada 'resistencia a la colonización'. Esta funciona a través de la diversidad y abundancia de especies comensales presentes y a través de la ocupación de nichos clave y la utilización de nutrientes (Lawley y Walker 2013; Britton y Young 2014). Si la homeostasis microbiana se altera, por ejemplo a través del uso de antibióticos, se puede producir un cambio hacia la disbiosis.

La disbiosis proporciona a los patógenos la oportunidad de establecerse y provocar enfermedad al individuo en cuestión. Esto se ha estudiado mejor en relación con un solo patógeno implicado tal como *Clostridium difficile* (Lawley y cols. 2012; Britton y Young 2014; Buffie y cols. 2015), pero la disbiosis también se ha relacionado con otras enfermedades multifactoriales más complejas tales como enteropatía inflamatoria (IBD), reservoritis (Angeriman y cols. 2014), síndrome del intestino irritable (IBS), encefalopatía hepática (Bajaj 2014; Bajaj y cols. 2012) enfermedades metabólicas (incluyendo síndrome metabólico, malnutrición y obesidad), trastornos neuropsiquiátricos tales como enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer, enfermedades autoinmunitarias, trastornos alérgicos y cáncer (Jostins, Ripke y cols. 2012, Collins 2014, Hold, Smith y cols. 2014, Pérez Martínez, Bauerl y cols. 2014, Scheperjans, Aho y cols. 2015; Blanton y cols. 2016, Xu y cols. 2015).

El trasplante de microbiota fecal (FMT) ha resultado satisfactorio para resolver la disbiosis asociada a *C. difficile* (Petrof y cols. 2013, van Nood y cols. 2013), y la administración de bacterias específicas también ha resultado eficaz para este fin (Lawley y cols. 2012, Buffie y cols. 2015). El FMT también ha mostrado resultados prometedores en el tratamiento de otras enfermedades intestinales, así como la atención médica de trastornos extraintestinales asociados con la microbiota intestinal, incluyendo enfermedades metabólicas, trastornos neuropsiquiátricos, enfermedades autoinmunitarias, trastornos alérgicos y tumores (Xu y cols. 2015).

Los últimos años han visto grandes avances en la comprensión del papel que la microbiota intestinal representa en la salud y la enfermedad y cómo se puede manipular en beneficio del anfitrión. La mayoría del conocimiento de los presentes inventores se ha derivado hasta la fecha de estudios independientes de cultivos, es decir al estudiar los componentes compositivos de la microbiota y cómo cambian durante la enfermedad usando técnicas moleculares y genómicas. Este procedimiento permite la identificación de candidatos terapéuticos potenciales que puedan solucionar la enfermedad. Sin embargo, el aislamiento, la purificación y la adquisición de estas posibles bacterias terapéuticas ha resultado difícil.

Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de identificar y aislar bacterias específicas, así como combinaciones de bacterias, que se puedan usar para tratar la disbiosis. Las composiciones terapéuticas basadas en bacterias o mezclas de bacterias definidas conocidas son ventajosas ya que mejoran la seguridad del paciente debido a que comprenden solo bacterias definidas y bien caracterizadas que se sabe que promueven, y no dañan, la salud humana, y eliminan la posibilidad de transferir involuntariamente material patógeno a un receptor mediante FMT. Además, estas composiciones terapéuticas se pueden preparar *in vitro* a gran escala usando procedimientos reproducibles estandarizados, proporcionando de ese modo uniformidad de lotes, y no dependen de donaciones regulares de

donantes sanos. Las composiciones terapéuticas que comprende bacterias o mezclas de bacterias definidas conocidas también se pueden aportar terapéuticamente, p. ej. en una cápsula, como un comprimido o como un enema, lo que es más aceptable para los pacientes y los profesionales sanitarios que las suspensiones de material fecal usadas en el caso del FMT. Las bacterias incluidas en estas composiciones terapéuticas pueden adaptarse además al tratamiento de estados disbióticos específicos y enfermedades asociadas con los mismos al alterar específicamente la composición bacteriana para solucionar óptimamente el estado disbiótico en cuestión y así mejorar la eficacia.

Sin embargo, a fin de aislar estas posibles bacterias terapéuticas para el tratamiento de la disbiosis, se requiere un conocimiento profundo de la biología de los candidatos en cuestión, así como un gran conjunto inicial de candidatos de los que seleccionar. Esto plantea un problema ya que la mayoría de las bacterias de la microbiota intestinal se consideran incultivables y nunca se han aislado en el laboratorio (Eckburg, Bik y cols. 2005, Hattori y Taylor 2009, Stewart 2012). Así, adquirir un conocimiento básico de los atributos funcionales de la microbiota y desarrollar una terapia a base de bacterias de múltiples especies con minuciosos aislados de comensales anaerobios presenta un reto extraordinario. Aunque esfuerzos recientes han progresado en la resolución de esta cuestión (Goodman, Kallstrom y cols. 2011, Lagier, Hugon y cols. 2015), sigue existiendo una necesidad en la técnica de identificar y aislar bacterias capaces de tratar la disbiosis.

### **Enunciados de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones terapéuticas, en particular composiciones terapéuticas para el uso en el tratamiento de la disbiosis en un individuo según se muestra en las reivindicaciones adjuntas. La disbiosis se puede producir en cualquier parte del organismo de un ser humano o un animal que normalmente esté colonizado por bacterias y otros microbios. La presente invención trata particularmente de la disbiosis del tracto gastrointestinal en seres humanos.

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que la mayoría de las bacterias presentes en la microbiota intestinal humana se pueden cultivar, contrariamente a la visión predominante en la técnica que era que la mayoría de la microbiota intestinal humana es incultivable. Este importante avance permite ahora que la mayoría de las bacterias presentes en la microbiota humana se aislen y caractericen, y se evalúe su actividad para tratar la disbiosis. Esto es posible no solo para aislados bacterianos individuales sino también para combinaciones de bacterias aisladas de la microbiota intestinal. Además, el aislamiento de estas bacterias permite que las bacterias se criben, por ejemplo, con respecto a la ausencia de factores de virulencia y resistencia a antibióticos antes de su inclusión en una composición terapéutica, mejorando de ese modo la seguridad. Además, las bacterias incluidas en una composición terapéutica se pueden ajustar al tratamiento de un estado disbiótico específico y/o una enfermedad asociada con el mismo al optimizar la composición bacteriana para solucionar la disbiosis en cuestión, mejorando de ese modo la eficacia. Nada de esto es posible en el FMT en el que se usan mezclas indefinidas de bacterias, habitualmente obtenidas de una muestra fecal de un donante humano sano. El uso de bacterias aisladas para el tratamiento de la disbiosis tiene la ventaja adicional de que permite que el tratamiento por bacterioterapia se estandarice, haciendo más predecibles las respuestas de los pacientes, así como facilitando la evaluación del potencial terapéutico de la bacterioterapia en el contexto de enfermedades particulares al eliminar la variabilidad en la composición bacteriana asociada al uso de FMT.

Al ser capaces sorprendentemente de cultivar la mayoría de las bacterias presente en la microbiota intestinal humana, los presentes inventores fueron capaces de preparar bibliotecas de bacterias intestinales que a continuación se sometieron a secuenciación del genoma completo y cribado usando tanto análisis informático como experimentos *in vitro* para identificar bacterias que se espera que sean útiles para tratar la disbiosis, en particular la disbiosis del tracto gastrointestinal. Usando este enfoque, los presentes inventores identificaron 51 bacterias que se espera que sean útiles para este fin, incluyendo varias familias, géneros y especies de bacterias que no se han descrito previamente, mucho menos aislado o empleado en el tratamiento de la disbiosis. Como ya se explicó anteriormente, se pensaba en la técnica que la mayoría de la microbiota humana era incultivable, de modo que la mera divulgación de una secuencia de ARN ribosómico 16S de una de estas bacterias no permite en sí misma el aislamiento de esta bacteria de su ambiente natural. Tampoco la divulgación de esta secuencia de ARN ribosómico 16S sugiere que una bacteria con esta secuencia se haya aislado previamente, ya que la información de la secuencia de ARN ribosómico 16S se puede obtener de poblaciones bacterianas, incluyendo muestras fecales, sin la necesidad de aislar bacterias individuales. Sin embargo, la capacidad para aislar bacterias en forma pura de su ambiente natural es un requisito previo para su inclusión en las composiciones terapéuticas según la presente invención.

Así, en un primer aspecto, la presente divulgación proporciona una composición terapéutica que comprende al menos una bacteria aislada y un excipiente farmacéuticamente aceptable. La bacteria comprende preferiblemente un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51.

La composición terapéutica puede comprender más de una bacteria aislada, además del excipiente farmacéuticamente aceptable. Cuando se incluye más de una bacteria en la composición terapéutica, las bacterias preferiblemente son distintas, donde cada bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51. Así, por ejemplo, la composición terapéutica puede comprender dos bacterias aisladas

distintas, donde la primera bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 1 y la segunda bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 2.

5 Según se menciona anteriormente, las composiciones terapéuticas de la presente invención encuentran aplicación en el tratamiento de la disbiosis, en particular el tratamiento de una disbiosis del tracto intestinal. Así, en un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición terapéutica según la invención para el uso en un método para tratar una disbiosis del tracto gastrointestinal, en un individuo.

10 Los métodos para preparar o fabricar una composición terapéutica según la presente invención también forman parte de la invención según se muestra en las reivindicaciones adjuntas. Así, en un tercer aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar o fabricar una composición terapéutica según la presente invención, donde el método comprende preferiblemente las etapas de:

- (i) cultivar una bacteria aislada según se describe en el presente documento; y
- (ii) mezclar las bacterias obtenidas en (i) con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 Según se menciona anteriormente, las composiciones terapéuticas de la presente invención pueden comprender al menos dos bacterias aisladas distintas según se muestra en las reivindicaciones adjuntas. Cuando la composición terapéutica comprende más de una bacteria aislada distinta, el método para preparar o fabricar una composición terapéutica comprende preferiblemente las etapas de:

(i) cultivar una primera bacteria aislada según se describe en el presente documento;

20 (ii) cultivar una segunda bacteria aislada según se describe en el presente documento; y

(ii) mezclar las bacterias obtenidas en (i) y (ii) con un excipiente farmacéuticamente aceptable. Las bacterias cultivadas en las etapas (i) y (ii) tienen preferiblemente secuencias de ARNr 16S distintas. Las etapas (i) y (ii) preferiblemente se realizan independientemente. El método anterior se puede adaptar para incluir etapas adicionales para permitir el cultivo de más de dos bacterias aisladas distintas, preferiblemente bacterias con secuencias de ARNr 16S distintas, al incluir una etapa o etapas adicionales para el cultivo de una bacteria aislada tercera o adicional según se divulga en el presente documento. En este caso, todas las bacterias cultivadas en el método se mezclan con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

### **Breve descripción de las figuras**

30 La Figura 1 muestra un diagrama esquemático de la secuencia de trabajo usada para cultivar, archivar y caracterizar la microbiota intestinal. El procedimiento incorpora varias etapas que son: cultivo, resiembra en estrías, archivo y fenotipo. (A) Muestras fecales recientes se dejaron sin tratar o se trataron para seleccionar bacterias con un fenotipo deseado (tal como esporulación). Las deposiciones se homogeneizaron y a continuación se diluyeron en serie antes de que partes alícuotas del homogenado se inocularan sobre agar de YCFA para cultivar las bacterias presentes en las muestras fecales. (B) Los aislados bacterianos se identificaron al seleccionar colonias individuales que a continuación se sembraron en estrías para la purificación antes de que se realizara la amplificación del gen de ARNr 16S de longitud completa y la secuenciación. (C) Cada aislado bacteriano único, nuevo y deseado se archivó congelado en una colección de cultivos y se generó para cada uno una secuencia del genoma completo. (D) A continuación, se realizó la caracterización fenotípica y la validación funcional de los estudios metagenómicos usando métodos *in vitro* e *in vivo*.

40 Figura 2: El cultivo fenotípico dirigido facilita el descubrimiento bacteriano de la microbiota fecal de seres humanos sanos. La Figura 2 muestra la abundancia relativa de bacterias en muestras fecales (eje x) en comparación con la abundancia relativa de bacterias que crecen sobre placas de agar de YCFA (eje y) según se determina mediante secuenciación metagenómica. Los resultados demuestran que las bacterias que crecen sobre agar de YCFA son representativas de las bacterias presentes en muestras fecales completas según se indica por una  $\rho$  de Spearman = 0,75.

45 La Figura 3 muestra un gráfico del análisis de componentes principales (PCoA) de secuencias del gen de ARNr 16S detectadas de 6 muestras fecales de donantes que representan bacterias en las muestras fecales completas (círculos vacíos), colonias bacterianas fecales recuperadas de placas de agar de YCFA sin pretratamiento con etanol (cuadrados negros rellenos) o con pretratamiento con etanol para seleccionar bacterias esporulantes resistentes a etanol (círculos negros rellenos). Estos resultados demuestran que el cultivo sin selección con etanol es representativo de la muestra fecal completa, mientras que el tratamiento con etanol cambia el perfil, enriqueciendo con respecto a bacterias esporulantes resistentes a etanol y permitiendo su aislamiento posterior.

50 Figura 4: Archivo de la diversidad y la novedad bacteriana a través de cultivo anaerobio. La Figura 4A muestra que las condiciones de cultivo empleadas por los presentes inventores permitían el aislamiento de representantes de 21 de los 25 géneros bacterianos fecales más abundantes según se determina mediante secuenciación metagenómica. Un

punto negro indica el número de especies cultivadas y archivadas de cada género. Lachnospiraceae incertae sedis, Lachnospiraceae sin clasificar, Clostridium IV y Clostridium XI no son géneros estrictos y representan especies actualmente no clasificadas. La Figura 4B muestra las 24 especies bacterianas más abundantes (que comprenden 90% de la abundancia bacteriana total a nivel de especie) según se determina mediante secuenciación metagenómica. Todas se cultivaron y archivaron excepto *Odoribacter splanchnicus*. La Figura 4C muestra que los miembros de la microbiota intestinal presentes en baja abundancia también se cultivaban. Al menos una especie representativa de cada uno de los géneros presentados se cultivaba. Los géneros se enumeran en orden de abundancia decreciente.

Figura 5: Filogenia de bacterias cultivadas y archivadas procedentes de microbiota fecal de ser humano sano. La Figura 5 muestra un árbol filogenético de bacterias cultivadas procedentes de 6 donantes construido a partir de secuencias del gen de ARNr 16S de longitud completa. Las nuevas posibles especies (círculos negros rellenos), géneros (círculos rellenos grises) y familias (estrellas rellenas) se muestran mediante colores punteados. Se indican los principales nombres de filos y familias. Las proteobacterias no se cultivaban, pero se incluyen por contexto.

Figura 6: El trasplante de microbiota fecal (FMT) restaura la microbiota intestinal de pacientes con infección recurrente por *C. difficile* hasta un estado sano. La Figura 6 muestra los resultados de un análisis de componentes principales de los donantes, los receptores y los controles a los 2-3 meses después del FMT. La aglomeración de las muestras fecales indica una estructura similar de la comunidad microbiana. El uso de antibióticos y la exposición a *C. difficile* conducen probablemente a un cambio desde el estado sano, como se observa en las muestras de control tratadas con metronidazol. El tratamiento de la infección por *C. difficile* (CDI) con vancomicina, un antibiótico que se dirige a organismos grampositivos, conduciría presumiblemente a una alteración adicional de la microbiota intestinal. El FMT conducía a un cambio desde una microbiota enferma a una sana con la mayor parte de las muestras pos-FMT agrupándose con los donantes y las muestras de control sanas.

Figura 7: Resumen taxonómico de las bacterias aisladas de muestras fecales de los donantes, receptores y controles procedentes de un estudio para tratar *C. difficile* usando FMT. Estos aislados bacterianos representan una gran muestra representativa de la diversidad de la microbiota intestinal.

Figura 8: Abundancia relativa promedio de candidatos para bacterioterapia en individuos sanos. Los candidatos para bacterioterapia se presentan en una abundancia promedio de más de 0,001% dentro de la microbiota gastrointestinal de 1883 individuos sanos (3218 muestras).

Figura 9: Los candidatos para bacterioterapia están reducidos en estados disbióticos y patológicos. Se representa el cambio promedio en número de veces en la abundancia relativa de cada candidato para bacterioterapia en estados patológicos y disbióticos en comparación con su abundancia relativa en microbiota sana. *Escherichia coli*, un marcador de la disbiosis, también se incluye para comparación. La abundancia relativa de una bacteria se refiere a la proporción de la microbiota total representada por la bacteria en cuestión.

La Figura 10 demuestra cómo se medía la zona de clarificación alrededor de los candidatos para bacterioterapia en los ensayos de superposición. La Figura 10 muestra parte de una placa de agar de YCFA sobre la que se sembraba en estrías un candidato para bacterioterapia en forma de X y se dejaba crecer. Después del crecimiento del candidato para bacterioterapia, la placa se cubrió con agar de superposición que comprendía *C. difficile* o *E. coli*. La inhibición del crecimiento de *C. difficile* o *E. coli* por un candidato para bacterioterapia se midió al determinar la anchura de la zona de clarificación alrededor de la cepa del candidato para bacterioterapia que crecía sobre la placa. La línea diagonal negra de la Figura 10 indica la distancia medida y registrada como la anchura de clarificación para un candidato para bacterioterapia ejemplar. Se tomaron cuatro mediciones por placa.

La Figura 11 muestra los resultados de ensayos de superposición de crecimiento de *C. difficile* y *E. coli* para determinar la actividad contra patógenos de candidatos para bacterioterapia. Las zonas de clarificación se midieron con una regla según se describe en la Figura 10. Se tomaron mediciones en milímetros (mm). La Figura 11 muestra la medición media  $\pm$  la desviación estándar a partir de un experimento representativo.

La Figura 12 muestra los resultados de ensayos de inhibición del crecimiento de *C. difficile* y *E. coli* para determinar la actividad contra patógenos de candidatos para bacterioterapia. La Figura 12A muestra la reducción en el crecimiento relativo de *C. difficile* en el sobrenadante libre de células (CFS) de cultivos de candidatos para bacterioterapia en el punto temporal de las 18,17 h, mientras que la Figura 12B muestra la reducción en el crecimiento relativo de *E. coli* en CFS procedente de posibles aislados para bacterioterapia. El crecimiento relativo de cualquier patógeno en el medio de YCFA de control era alto (*C. difficile* =  $8,96 \pm 0,39$  unidades de crecimiento relativo; *E. coli*  $11,61 \pm 2,55$  unidades de crecimiento relativo, en el punto temporal de las 18,17 h). Cuando la media y dos desviaciones estándar de crecimiento relativo de cualquier patógeno en CFS derivado de un posible cultivo para bacterioterapia estuvieran más de dos desviaciones estándar por debajo de su crecimiento medio en YCFA en el punto temporal de las 18,17 h, se consideraba que el crecimiento del patógeno se inhibía. Cuando solo estuviera disponible un valor del crecimiento relativo para un CFS particular (frente a *C. difficile*, Figura 12A: HMI 15, HMI 26, HMI 27, HMI 28), se consideraba que el candidato para bacterioterapia era inhibidor si el crecimiento relativo de *C. difficile* estaba dos desviaciones estándar por debajo del crecimiento medio de *C. difficile* en caldo de YCFA. Solo se muestran los resultados de CFS inhibidor.

La Figura 13 muestra un resumen de los resultados obtenidos en los ensayos de superposición de crecimiento e inhibición del crecimiento. Se muestran los aislados bacterianos que se muestra que tienen actividad inhibidora en el ensayo de superposición de *E. coli* (AIEC), el ensayo de superposición de *C. difficile* y los ensayos de crecimiento de *C. difficile* y *E. coli*. Se muestran en las regiones superpuestas aislados bacterianos que muestran actividad inhibidora en dos o más ensayos. Los aislados bacterianos se nombran por su número de aislado. Véase la Tabla 1 para detalles de los aislados bacterianos enumerados.

Figura 14: Dendrograma y gráficos de barras que muestran la abundancia relativa de cada género indicado en la Figura 14 a los 3 meses después del FMT tanto en donantes como en receptores. El dendrograma agrupa muestras basadas en la relación filogenética de la comunidad microbiana presente dentro de las muestras. La composición de los perfiles de donantes y receptores era similar cuando se valoraba a nivel de género después del FMT.

### **Descripción detallada**

Las bacterias divulgadas en el presente documento se han obtenido de muestras de deposiciones humanas, y así están presentes naturalmente en el tracto gastrointestinal de al menos algunos individuos humanos sanos. Sin embargo, estas bacterias han sido cultivadas *in vitro* por primera vez por los presentes inventores, aislándolas de ese modo de su ambiente en forma pura, y haciendo posible incluirlas como ingredientes activos definidos en composiciones terapéuticas. Se aísla así la bacteria presente en la composición terapéutica de la presente invención. En otras palabras, la bacteria presente en la composición terapéutica se proporciona en forma aislada y/o purificada, p. ej. aislada y/o purificada del ambiente en el que normalmente está presente, tal como el tracto gastrointestinal y/o muestras de deposiciones. La bacteria aislada presente en la composición terapéutica puede ser sustancialmente pura, o estar en forma homogénea. Por ejemplo, la bacteria puede estar libre, o sustancialmente libre, de material con el que se encuentra en el entorno en el que normalmente está presente (p. ej. el tracto gastrointestinal y/o muestras de deposiciones).

La bacteria presente en la composición terapéutica de la presente divulgación es preferiblemente una bacteria intestinal humana, es decir una bacteria encontrada en el intestino humano. Las bacterias cuyas secuencias del gen de ARNr 16S se indican en las SEQ ID NOs 1 a 51 son todas bacterias intestinales.

La bacteria es preferiblemente una bacteria no patógena. En otras palabras, la bacteria preferiblemente no provoca enfermedad en un individuo humano sano cuando se administra a dicho individuo, en particular al tracto gastrointestinal de dicho individuo. La composición terapéutica se puede administrar a un individuo de una variedad de modos según se describe con más detalle en otras partes en el presente documento, incluyendo en forma de comprimido o enema.

La bacteria presente en la composición terapéutica de la presente divulgación preferiblemente es sensible al tratamiento con uno o más antibióticos. En otras palabras, la bacteria preferiblemente no es resistente al tratamiento con al menos un antibiótico. Esto permite el tratamiento antibiótico de un individuo en caso de que una o más de las bacterias incluidas en una composición terapéutica administrada al individuo provoquen enfermedad en el individuo, contrariamente a lo esperado. Se encontró que ninguna de las 51 bacterias divulgadas en el presente documento soportan genes conocidos que confieran resistencia a los siguientes antibióticos: beta-lactamas, ácido fusídico, elfamicina, aminoglucósido, fosfomicina y tunicamicina. Así, en una realización preferida, la bacteria es sensible al tratamiento con uno o más antibióticos seleccionados del grupo que consiste en: una betalactama, ácido fusídico, elfamicina, aminoglucósido, fosfomicina y tunicamicina. Se conocen en la técnica métodos *in vitro* e informáticos para cribar bacterias con respecto a la resistencia a antibióticos. Métodos informáticos ejemplares también se describen en el Ejemplo 1.

La bacteria incluida en la composición terapéutica de la presente divulgación preferiblemente no comprende uno o más genes que codifiquen uno o más factores de virulencia y/o preferiblemente no produce uno o más factores de virulencia. En este contexto, los factores de virulencia son propiedades que mejoran el potencial de una bacteria para provocar enfermedad en un individuo. Los factores de virulencia incluyen la producción de toxinas bacterianas, tales como endotoxinas y exotoxinas, por una bacteria, así como la producción de enzimas hidrolíticas que pueden contribuir a la patogenicidad de la bacteria. Métodos para cribar bacterias con respecto a genes que codifican factores de virulencia son conocidos en la técnica e incluyen los métodos informáticos descritos en el Ejemplo 1. Se encuentra que ninguna de las 51 bacterias divulgadas en el presente documento soporta factores de virulencia conocidos usando análisis informático. De forma similar, se conocen en la técnica métodos para cribar bacterias con respecto a la producción de factores de virulencia.

Las bacterias se pueden clasificar taxonómicamente basándose en la secuencia del gen que codifica el ARN ribosómico (ARNr) 16S en la bacteria. Esta secuencia génica también se denomina la secuencia de ADN ribosómico (ADNr). Una bacteria que comprende un gen que codifica un ARNr 16S que tiene 90% o más de identidad de secuencia con el ARNr 16S codificado por una segunda bacteria pertenece a la misma familia que dicha segunda bacteria. Una bacteria que comprende un gen que codifica un ARNr 16S que tiene 95% o más de identidad de secuencia con el ARNr 16S codificado por una segunda bacteria pertenece al mismo género que dicha segunda bacteria. Una bacteria que comprende un gen que codifica un ARNr 16S que tiene 97% o más o 98,7% o más de identidad de secuencia con el ARNr 16S codificado por una segunda bacteria pertenece a la misma especie que dicha

segunda bacteria. Una bacteria incluida en la composición terapéutica de la presente divulgación puede ser una bacteria que pertenece a la misma familia, género y/o especie que una bacteria divulgada en el presente documento.

Se espera que una bacteria que pertenece a la misma familia, género y/o especie que una bacteria divulgada en el presente documento retenga una o más propiedades de la bacteria divulgada. Así, en una realización preferida de la divulgación, una bacteria presente en la composición terapéutica de la presente divulgación pertenece a la misma familia, género y/o especie que una bacteria divulgada en el presente documento y retiene al menos una propiedad de la bacteria divulgada en el presente documento. Se describen diversas propiedades de las bacterias divulgadas en el presente documento e incluyen, por ejemplo, falta de producción de uno o más factores de virulencia, sensibilidad al tratamiento con uno o más antibióticos y falta de patogenicidad.

10 La composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51.

15 Por ejemplo, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51. En una realización preferida de la divulgación, la composición terapéutica comprende una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, y donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 1. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, y donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 21.

25 Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51. En una realización preferida de la divulgación, la composición terapéutica comprende al menos una bacteria aislada, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, y donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2 a 20, o 22 a 51, más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 6, 11, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 29, 33, 35, 41, 43, 45, 46, 47, 49 o 50, aún más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 6, 11, 13, 15, 19, 22, 23, 29, 33, 35, 41, 43, 45, 46 o 50.

30 Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 97%, o al menos 98,7%, de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51. En una realización preferida de la divulgación, la composición terapéutica comprende al menos una bacteria aislada, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, y donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2 a 20, o 22 a 51, más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NOs 2 a 3, 5 a 8, 10 a 20, 22 a 26, 29 a 37, o 39 a 50, aún más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NOs 3, 5 a 8, 10 a 13, 15, 16, 19, 22, 23, 29, 32 a 37, 39 a 46, o 48 a 50. En una realización preferida alternativa de la divulgación, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, y donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 98,7% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2 a 20, o 22 a 51, más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NOs 2 a 4, 5 a 20, 22 a 26, 29 a 37 a 51, aún más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NOs 2 a 8, 10 a 13, 15, 16, 17, 19, 20, 22, 23, 29, 31, 32 a 37 a 46, o 48 a 51.

35 Según se menciona anteriormente, en una realización preferida de la divulgación, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 21. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 29. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 6, 11, 19 o 24. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13, 22, 26 o 35. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 94% identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 14, 15, 17, 18, 23 o 50. Además, o

alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 20, 33, 41, 43, 45, 46, 47 o 49. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 7, 8, 10, 12, 30, 32, 39, 42, 44 o 48. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 3, 16, 25, 31, 34, 36, 37 o 40. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4 o 9. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 27, 28, 38 o 51.

Más preferiblemente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 21. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 6 o 11. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 35. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 19, 22, 23 o 50. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13, 15, 29, 33, 41, 43, 45 o 46. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 7, 12, 32, 39, 42 o 44, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 3, 8, 10, 16, 34, 36, 37, 40, 48 o 49. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4, 9, 17 o 31. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 20, 38 o 51. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14, 18, 24, 25, 26, 27, 28, 30 o 47.

La identidad de secuencia se define comúnmente con referencia al algoritmo GAP (paquete informático Wisconsin GCG, Accel-erys Inc, San Diego EE. UU. de A.). GAP usa el algoritmo de Needleman y Wunsch para alinear dos secuencias completas que maximiza el número de coincidencias y minimiza el número de huecos. Generalmente, se usan parámetros por defecto, con una penalización por creación de hueco = 12 y una penalización por extensión de hueco = 4. Otros algoritmos adecuados para el alineamiento de secuencias nucleotídicas se pueden usar en lugar de GAP, p. ej. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (que usa el método de Altschul y cols. (1990) J. Mol. Biol. 215: 405-410), FASTA (que usa el método de Pearson y Lipman (1988) PNAS USA 85: 2444-2448), el algoritmo de Smith-Waterman (Smith y Waterman (1981) J. Mol Biol. 147: 195-197), el programa TBLASTN, de Altschul y cols. (1990) anteriormente o el algoritmo psi-Blast (Nucl. Acids Res. (1997) 25 3389-3402), empleando generalmente parámetros por defecto. En particular, se puede usar BLAST, preferiblemente empleando parámetros por defecto.

Los algoritmos de alineamiento de secuencias, tales como BLAST, calculan la puntuación de similitud entre una secuencia buscada y una secuencia encontrada. La identidad de secuencia de la secuencia buscada con la secuencia encontrada puede depender del porcentaje de la secuencia buscada que se requiera superponer con la secuencia encontrada. Esto también se denomina cobertura de búsqueda. En una realización preferida de la divulgación, la bacteria aislada presente en la composición terapéutica de la presente divulgación comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia que (además de la identidad de secuencia especificada) tiene una cobertura de búsqueda de al menos 98%, al menos 99% o 100%, preferiblemente al menos 98%. La cobertura de búsqueda se refiere al porcentaje de dicha secuencia que se superpone con la secuencia con la que tiene la identidad de secuencia especificada, p. ej. SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, la bacteria presente en la composición terapéutica puede comprender un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al

menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1 a 51 y al menos 98% de cobertura de búsqueda.

5 Aún más preferiblemente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria es una bacteria depositada bajo el Tratado de Budapest en the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purposes of Patent Procedures en the Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Inhoffenstr. 7B, 38124 Braunschweig por Genome Research Limited con un número de registro como el enumerado en la Tabla 1 posteriormente.

10 Específicamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria es una bacteria depositada bajo en Tratado de Budapest en DSMZ con uno de los siguientes números de registro (la fecha de depósito en DSMZ para cada bacteria depositada se indica entre paréntesis después del número de registro): DSM32191 (27 de octubre de 2015), DSM32147 (23 de septiembre de 2015), DSM32149 (23 de septiembre de 2015), DSM32175 (6 de octubre de 2015), DSM32153 (27 de octubre de 2015), DSM32152 (23 de septiembre de 2015), DSM32158 (23 de septiembre de 2015), DSM32192 (27 de octubre de 2015), DSM32148 (23 de septiembre de 2015), DSM32166 (6 de octubre de 2015), DSM32151 (23 de septiembre de 2015), DSM32150 (23 de septiembre de 2015), DSM32193 (27 de octubre de 2015), DSM32162 (6 de octubre de 2015), DSM32194 (27 de octubre de 2015), DSM32163 (6 de octubre de 2015), DSM32205 (1 de marzo de 2016), DSM32195 (27 de octubre de 2015), DSM32164 (6 de octubre de 2015), DSM32177 (13 de octubre de 2015), DSM32167 (6 de octubre de 2015), DSM32165 (6 de octubre de 2015), DSM32169 (6 de octubre de 2015), DSM32168 (6 de octubre de 2015), DSM32178 (13 de octubre de 2015), DSM32182 (13 de octubre de 2015), DSM32179 (13 de octubre de 2015), DSM32180 (13 de octubre de 2015), DSM32184 (13 de octubre de 2015), DSM32181 (13 de octubre de 2015), DSM32183 (13 de octubre de 2015), DSM32262 (2 de febrero de 2016), DSM32211 (2 de diciembre de 2015), DSM32219 (8 de diciembre de 2015), DSM32222 (8 de diciembre de 2015), DSM32261 (2 de febrero de 2016), DSM32212 (2 de diciembre de 2015), DSM32220 (8 de diciembre de 2015), DSM32213 (2 de diciembre de 2015), DSM32226 (8 de diciembre de 2015), DSM32215 (2 de diciembre de 2015), DSM32216 (2 de diciembre de 2015), DSM32217 (2 de febrero de 2016), DSM32221 (8 de diciembre de 2015), DSM32218 (2 de diciembre de 2015), DSM32224 (8 de diciembre de 2015), DSM32214 (2 de diciembre de 2015), DSM32263 (2 de febrero de 2016), DSM32223 (8 de diciembre de 2015), DSM32225 (8 de diciembre de 2015) y DSM32265 (10 de febrero de 2016). Los posibles nombres del género y la especie de las bacterias depositadas, así como sus características conocidas, se enumeran en la Tabla 1 posteriormente.

30 Aún más preferiblemente, la composición terapéutica de la presente divulgación comprende al menos una bacteria aislada, donde la bacteria es una bacteria depositada bajo en Tratado de Budapest en DSMZ con uno de los siguientes números de registro: DSM32191 y DSM32177. Además, o alternativamente, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada, donde la bacteria es una bacteria depositada bajo el Tratado de Budapest en DSMZ con uno de los siguientes números de registro: DSM32153, DSM32152, DSM32151, DSM32193, DSM32162, DSM32194, DSM32205, DSM32195, DSM32164, DSM32177, DSM32165, DSM32169, DSM32168, DSM32182, DSM32184, DSM32211, DSM32222, DSM32215, DSM32217, DSM32218, DSM32224, DSM32214, DSM32223 y DSM32225; más preferiblemente una bacteria depositada con uno de los siguientes números de registro: DSM32153, DSM32152, DSM32151, DSM32193, DSM32194, DSM32164, DSM32165, DSM32169, DSM32184, DSM32211, DSM32222, DSM32215, DSM32217, DSM32218, DSM32224 y DSM32225.

40 Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada, comprendiendo dicha bacteria un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

45 La composición terapéutica de la divulgación puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho, al menos diecinueve, al menos diecinueve, al menos veinte, al menos veintiuna, al menos veintidós, al menos veintitrés, al menos veinticuatro, al menos veinticinco, al menos veintiséis, al menos veintisiete, al menos veintiocho, al menos veintinueve, al menos treinta, al menos treinta y una, al menos treinta y dos, al menos treinta y tres, al menos treinta y cuatro, al menos treinta y cinco, al menos treinta y seis, al menos treinta y siete, al menos treinta y ocho, al menos treinta y nueve, al menos cuarenta, al menos cuarenta y una, al menos cuarenta y dos, al menos cuarenta y tres, al menos cuarenta y cuatro, al menos cuarenta y cinco, al menos cuarenta y seis, al menos cuarenta y siete, al menos cuarenta y ocho, al menos cuarenta y nueve, al menos cincuenta o al menos cincuenta y una bacterias como las divulgadas en el presente documento.

60 La composición terapéutica de la divulgación puede comprender una, hasta dos, hasta tres, hasta cuatro, hasta cinco, hasta seis, hasta siete, hasta ocho, hasta nueve, hasta diez, hasta once, hasta doce, hasta trece, hasta catorce, hasta quince, hasta dieciséis, hasta diecisiete, hasta dieciocho, hasta diecinueve, hasta diecinueve, hasta veinte, hasta veintiuna, hasta veintidós, hasta veintitrés, hasta veinticuatro, hasta veinticinco, hasta veintiséis, hasta veintisiete, hasta veintiocho, hasta veintinueve, hasta treinta, hasta treinta y una, hasta treinta y dos, hasta treinta y tres, hasta treinta y cuatro, hasta treinta y cinco, hasta treinta y seis, hasta treinta y siete, hasta treinta y ocho, hasta treinta y

nueve, hasta cuarenta, hasta cuarenta y una, hasta cuarenta y dos, hasta cuarenta y tres, hasta cuarenta y cuatro, hasta cuarenta y cinco, hasta cuarenta y seis, hasta cuarenta y siete, hasta cuarenta y ocho, hasta cuarenta y nueve, hasta cincuenta o hasta cincuenta y una bacterias como las divulgadas en el presente documento. Preferiblemente, la composición terapéutica de la divulgación comprende hasta veinte, preferiblemente hasta diez, bacterias como las divulgadas en el presente documento.

Cuando una composición terapéutica comprende más de una bacteria aislada, las bacterias aisladas preferiblemente son distintas. "Distintas" se puede referir a que las bacterias codifican distintas secuencias de ARNs 16S.

La composición terapéutica de la divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que forma esporas. Esta bacteria también se denomina bacteria esporulante. Las esporas son estructuras metabólicamente latentes que son resistentes a ataques medioambientales y son usadas por ciertas bacterias como una estrategia de supervivencia al encontrar condiciones adversas. Los candidatos para bacterioterapia HMI\_1, HMI\_2, HMI\_4, HMI\_6, HMI\_10, HMI\_15, HMI\_17, HMI\_21, HMI\_22, HMI\_33, HMI\_36, HMI\_37, HMI\_38, HMI\_44, HMI\_47, HMI\_48, HMI\_50, HMI\_51 y HMI\_52 se aislaron de muestras tratadas con etanol y se espera así que sean capaces de formar esporas. Además, se espera que HMI\_3, HMI\_7, HMI\_8, HMI\_16, HMI\_18, HMI\_19, HMI\_24, HMI\_25, HMI\_26, HMI\_27, HMI\_28, HMI\_29, HMI\_30, HMI\_34, HMI\_41 y HMI\_46 sean esporulantes basándose en el análisis filogenético.

Así, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho, al menos diecinueve, al menos veinte, al menos veintiuna, al menos veintidós, al menos veintitrés, al menos veinticuatro, al menos veinticinco, al menos veintiséis, al menos veintisiete, al menos veintiocho, al menos veintinueve, al menos treinta, al menos treinta y una, al menos treinta y dos, al menos treinta y tres, al menos treinta y cuatro o al menos treinta y cinco bacterias esporulantes aisladas. En un aspecto, las bacterias en la composición terapéutica pueden consistir en bacterias esporulantes.

La bacteria esporulante puede ser así una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 35, 36, 37, 40, 43, 45, 46, 47, 49, 50 o 51. Alternativamente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 2, 4, 6, 10, 14, 16, 20, 21, 32, 35, 36, 37, 43, 46, 47, 49, 50 o 51

La bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 35, 36, 37, 40, 43, 45, 46, 47, 49, 50 o 51. Alternativamente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 2, 4, 6, 10, 14, 16, 20, 21, 32, 35, 36, 37, 43, 46, 47, 49, 50 o 51

Preferiblemente, la bacteria esporulante es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 1 o SEQ ID NO: 21, y/o al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 32, 33, 35, 36, 37, 40, 43, 45, 46, 47, 49, 50 o 51. Más preferiblemente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 1 o SEQ ID NO: 21, y/o al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 2, 4, 6, 10, 14, 16, 20, 32, 35, 36, 37, 43, 46, 47, 49, 50 o 51.

Más preferiblemente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 21, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 29, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 6 o 24 al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 35 o 26, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14, 15, 17, 18, 23 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 20, 33, 43, 45, 46, 47 o 49, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 7, 8, 10 o 32, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 3, 16, 25,

36, 37 o 40, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 27, 28 o 51. Aún más preferiblemente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 21, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 6, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 35, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 20, 43, 46, 47 o 49, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 10 o 32, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 36 o 37, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 51.

Más preferiblemente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 21, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 6, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 35, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 23 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 15, 29, 33, 43, 45 o 46, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 7 o 32, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 3, 10, 16, 36, 37, 40 o 49, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NOs 4, 8 o 17, al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 20 o 51 o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14, 18, 25, 26, 27, 28 o 47. Incluso más preferiblemente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 21, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 6, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 35, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 43 o 46, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 32, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 10, 16, 36, 37 o 49, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4, al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 20 o 51 o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14 o 47.

Aún más preferiblemente, la bacteria esporulante puede ser una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32191, DSM32147, DSM32175, DSM32152, DSM32166, DSM32162, DSM32163, DSM32177, DSM32167, DSM32262, DSM32222, DSM32261, DSM32212, DSM32217, DSM32224, DSM32214, DSM32223, DSM32225, DSM32265, DSM32149, DSM32158, DSM32192, DSM32194, DSM32205, DSM32195, DSM32169, DSM32168, DSM32178, DSM32182, DSM32179, DSM32180, DSM32211, DSM32226 o DSM32218. Lo más preferiblemente, la bacteria esporulante es una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32191, DSM32147, DSM32175, DSM32152, DSM32166, DSM32162, DSM32163, DSM32177, DSM32167, DSM32262, DSM32222, DSM32261, DSM32212, DSM32217, DSM32224, DSM32214, DSM32223, DSM32225 o DSM32265. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria esporulante aislada, comprendiendo dicha bacteria un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada según se describe anteriormente.

La bacteria aislada presente en la composición terapéutica puede ser antagonista para una bacteria intestinal, inhibir o prevenir el crecimiento o la esporulación de una bacteria intestinal y/o neutralizar o proteger frente a una toxina producida por una bacteria intestinal. Preferiblemente la bacteria inhibe o previene el crecimiento de una bacteria intestinal. La bacteria intestinal puede ser una bacteria intestinal patógena o no patógena. Preferiblemente, la bacteria intestinal es una bacteria patógena. Esto se prefiere particularmente en el contexto de una composición terapéutica para el uso en el tratamiento de una disbiosis asociada con una infección bacteriana entérica. Sin embargo, también se sabe que otras enfermedades se caracterizan por un incremento en ciertos tipos de bacterias en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, se sabe que la enteropatía inflamatoria se caracteriza por un incremento en las bacterias del filo Proteobacteria, tales como *Escherichia coli*, en la microbiota intestinal. De forma similar, se sabe que el síndrome del intestino irritable, la obesidad y la malnutrición se caracterizan por un incremento en ciertos tipos de bacterias en el tracto gastrointestinal. Una composición bacteriana que comprende al menos una bacteria que es antagonista para una bacteria intestinal, inhibe o previene el crecimiento o la esporulación de una bacteria intestinal, y/o neutraliza o protege frente a una toxina producida por una bacteria intestinal también encuentra así aplicación en el tratamiento de disbiosis asociada con enteropatía inflamatoria, síndrome del intestino irritable, obesidad o malnutrición.

La bacteria patógena puede ser una bacteria grampositiva o una bacteria gramnegativa. Bacterias patógenas ejemplares incluyen bacterias patógenas de los géneros *Clostridium*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Klebsiella*,

*Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Bacillus*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Plesiomonas* o *Yersinia*. En una realización preferida de la divulgación, la bacteria patógena es una bacteria patógena de los géneros *Clostridium* o *Escherichia*, tales como *Clostridium difficile* o *Escherichia coli*.

5 Ejemplos de *Escherichia coli* patógenas incluyen *Escherichia coli* adherente-invasiva (AIEC), *Escherichia coli* enteroagregativa, *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Escherichia coli* enteroinvasiva, *Escherichia coli* enterotoxigénica y *Escherichia coli* 0157:H7. Una *Escherichia coli* enterotoxigénica puede producir una enterotoxina termolábil o una enterotoxina termoestable.

Por ejemplo, la bacteria patógena puede ser *Clostridium difficile* o *E. coli* adherente-invasiva (AIEC).

10 Se ha mostrado que los candidatos para bacterioterapia HMI\_14, HMI\_25, HMI\_42, HMI\_26, HMI\_28, HMI\_35 y HMI\_46 inhiben el crecimiento de *Clostridium difficile* en un ensayo de superposición. Además, se ha mostrado que HMI\_2, HMI\_4, HMI\_5, HMI\_6, HMI\_15, HMI\_26, HMI\_27, HMI\_28, HMI\_34, HMI\_35, HMI\_39, HMI\_40, HMI\_43, HMI\_44, HMI\_46 y HMI\_47 inhiben el crecimiento de *Clostridium difficile* en un ensayo de inhibición del crecimiento relativo de CFS (véanse el Ejemplo 2, la Figura 13 y la Tabla 1).

15 Se ha mostrado que los candidatos para bacterioterapia HMI\_4, HMI\_10, HMI\_11, HMI\_14, HMI\_26, HMI\_28, HMI\_33, HMI\_35, HMI\_42 y HMI\_46 inhiben el crecimiento de *Escherichia coli* en un ensayo de superposición. Además, se ha mostrado que HMI\_46 y HMI\_28 inhiben el crecimiento de *Escherichia coli* en un ensayo de inhibición del crecimiento relativo de CFS (véanse el Ejemplo 2, la Figura 13 y la Tabla 1).

20 Se espera que una bacteria que inhiba el crecimiento de *Escherichia coli* también inhiba el crecimiento de otras Proteobacteria. Así, la bacteria patógena puede ser una proteobacteria. Las Proteobacteria incluyen (aparte de las especies de *Escherichia*), especies de *Salmonella*, especies de *Campylobacter*, especies de *Vibrio*, especies de *Helicobacter* y especies de *Yersinia*.

25 Se espera que una bacteria que inhiba el crecimiento de *Clostridium difficile* también inhiba el crecimiento de otras bacterias del género *Clostridium*. Así, la bacteria patógena puede ser una bacteria del género *Clostridium*. Bacterias patógenas del género *Clostridium* (aparte de *Clostridium difficile*), incluyen *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium tetani*.

30 La composición terapéutica puede comprender así al menos una bacteria aislada que inhiba el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli*. Por ejemplo, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho, al menos diecinueve, al menos veinte, al menos veintiuna o al menos veintidós bacterias aisladas que inhiben el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli*. En una realización de la divulgación, las bacterias en la composición terapéutica pueden consistir en una o más bacterias aisladas que se ha mostrado que inhiben el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli*.

35 En una realización preferida de la divulgación, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada que se ha mostrado que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile*. Esto se prefiere en el contexto de una composición terapéutica para el uso en el tratamiento de una disbiosis asociada con una infección entérica, en particular una disbiosis asociada con una infección con una especie patógena relacionada con *Clostridium*, tal como *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* o *Clostridium tetani*, lo más preferiblemente *Clostridium difficile*.

40 Por ejemplo, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho o al menos diecinueve bacterias aisladas que inhiben el crecimiento de *Clostridium difficile*. En una realización de la divulgación, las bacterias en la composición terapéutica pueden consistir en bacterias que inhiben el crecimiento de *Clostridium difficile*.

45 Una bacteria inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 4, 5, 6, 13, 14, 24, 25, 26, 27, 33, 34, 38, 39, 41, 42, 43, 45 y 46.

50 Alternativamente, una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 4, 5, 6, 13, 14, 24, 25, 26, 27, 33, 34, 38, 39, 41, 42, 43, 45 y 46.

55 Más preferiblemente, una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al

5 menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 6 o 24, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13 o 26, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5 o 14, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 33, 41, 43, 45 o 46, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 39 o 42, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 25 o 34, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 27 o 38.

10 Aún más preferiblemente, una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 6, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 5, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13, 33, 41, 43, 45 o 46, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 39 o 42, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 34, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4, al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2 o 38 o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14, 24, 25, 26 o 27.

20 Lo más preferiblemente, la bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* puede ser una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32147, DSM32175, DSM32153, DSM32152, DSM32193, DSM32162, DSM32168, DSM32178, DSM32182, DSM32179, DSM32211, DSM32219, DSM32220, DSM32213, DSM32215, DSM32216, DSM32217, DSM32218, DSM32224. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile*, donde dicha bacteria que comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

30 En una realización preferida alternativa de la divulgación, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli*. Esto se prefiere en el contexto de una composición terapéutica para el uso en el tratamiento de una disbiosis asociada con una infección entérica, en particular una disbiosis asociada con una infección con una Proteobacterium, tal como una especie de *Escherichia*, una especie de *Salmonella*, una especie de *Campylobacter*, una especie de *Vibrio*, una especie de *Helicobacter* y una especie de *Yersinia*, lo más preferiblemente una disbiosis asociada con una infección con *Escherichia coli*.

35 Por ejemplo, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve o al menos diez bacterias aisladas que inhiben el crecimiento de *Escherichia coli*. En una realización de la divulgación, las bacterias en la composición terapéutica puede consistir en bacterias que inhiben el crecimiento de *Escherichia coli*.

40 Una bacteria que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4, 10, 11, 13, 25, 27, 32, 34, 41, y 45.

45 Alternativamente, una bacteria que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4, 10, 11, 13, 25, 27, 32, 34, 41 y 45.

50 Más preferiblemente, una bacteria que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 11, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 13, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 41 o 45, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 10 o 32, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 25 o 34, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 27.

55 Aún más preferiblemente, una bacteria que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 11, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13, 41 o 45, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 32, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 10 o 34, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia

indicada en SEQ ID NO: 4 o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 25 o 27.

Lo más preferiblemente, la bacteria que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* puede ser una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32175, DSM32166, DSM32151, DSM32193, DSM32178, DSM32179, DSM32262, DSM32219, DSM32215, DSM32218. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que inhibe el crecimiento de *Escherichia coli*, donde dicha bacteria que comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

Además de una bacteria aislada que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli*, la composición terapéutica puede comprender al menos una bacteria aislada que coexiste coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento. Candidatos para bacterioterapia que se ha mostrado que coexisten con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento son HMI\_2, HMI\_5, HMI\_6, HMI\_7, HMI\_8, HMI\_9, HMI\_10, HMI\_11, HMI\_12, HMI\_14, HMI\_15, HMI\_16, HMI\_17, HMI\_18, HMI\_19, HMI\_20, HMI\_26, HMI\_27, HMI\_31, HMI\_33, HMI\_34, HMI\_35, HMI\_37, HMI\_38, HMI\_39, HMI\_41, HMI\_42, HMI\_43, HMI\_44, HMI\_46, HMI\_47, HMI\_48, HMI\_50, HMI\_51 y HMI\_52 (véase la Tabla 1 para los detalles).

Así, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho, al menos diecinueve, al menos diecinueve, al menos veinte, al menos veintiuna, al menos veintidós, al menos veintitrés, al menos veinticuatro, al menos veinticinco, al menos veintiséis, al menos veintisiete, al menos veintiocho, al menos veintinueve, al menos treinta, al menos treinta y una, al menos treinta y dos, al menos treinta y tres, al menos treinta y cuatro o treinta y cinco bacterias aisladas que coexisten con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento.

La bacteria que coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 30, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 49, 50 o 51.

Alternativamente, la bacteria que coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 30, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 49, 50 o 51.

Preferiblemente, la bacteria que coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 6, 11 o 19, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13 o 26, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 14, 15, 17, 18 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 33, 41, 43, 45, 46, 47 o 49, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 7, 8, 10, 12, 30, 32 o 42, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 25, 34, 36, 37 o 40, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 9 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 38 o 51.

Más preferiblemente, la bacteria que coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 6 u 11, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 19 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 13, 15, 33, 41, 43, 45 o 46, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 7, 12, 32 o 42, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 8, 10, 16, 34, 36, 37, 40 o 49, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 9 o 17, al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 38, 51 o al menos 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14, 18, 25, 26, 30 o 47.

Lo más preferiblemente, la bacteria que coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento es una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32147, DSM32153, DSM32152, DSM32158, DSM32192, DSM32148, DSM32166, DSM32151, DSM32150, DSM32193, DSM32162, DSM32194, DSM32163, DSM32205, DSM32195, DSM32164, DSM32178, DSM32182, DSM32181, DSM32262, DSM32211, DSM32219, DSM32261, DSM32212, DSM32220, DSM32226, DSM32215, DSM32216, DSM32217, DSM32218, DSM32224, DSM32214, DSM32223, DSM32225 o DSM32265. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que coexiste con una bacteria que inhibe el crecimiento de *Clostridium difficile* y/o *Escherichia coli* según se divulga en el presente documento, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

Se ha mostrado que las bacterias relacionadas con el género *Clostridium* son beneficiosas para reducir la inflamación a través de interacciones con el sistema inmunitario del anfitrión (Atarashi, Tanoue y cols. 2013). La bacteria aislada presente en la composición terapéutica puede ser así una bacteria que tiene actividad inmunomoduladora. Por ejemplo, la bacteria puede reducir la inflamación en el individuo, p. ej. en el tracto gastrointestinal del individuo. Candidatos para bacterioterapia que son del mismo género que las bacterias que se ha mostrado que son beneficiosas para reducir la inflamación a través de interacciones con el sistema inmunitario son HMI\_4, HMI\_9, HMI\_10, HMI\_15, HMI\_27, HMI\_28 y HMI\_38. Por lo tanto, se espera que las bacterias tengan actividad inmunomoduladora, tal como reducir la inflamación en el individuo, p. ej. en el tracto gastrointestinal del individuo.

Así, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis o al menos siete bacterias aisladas que tienen actividad inmunomoduladora. En una realización de la divulgación, las bacterias en la composición terapéutica consisten en bacterias que reducen la inflamación en el individuo.

La bacteria que tiene actividad inmunomoduladora puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4, 9, 10, 14, 26, 27 o 37.

Alternativamente, una bacteria que tiene actividad inmunomoduladora puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4, 9, 10, 14, 26, 27 o 37.

Preferiblemente, una bacteria que tiene actividad inmunomoduladora puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 26, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 14, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 10, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 37, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4 o 9 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 27. Más preferiblemente, una bacteria que tiene actividad inmunomoduladora puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en cualquiera de SEQ ID NOs 10 o 37, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4 o 9 o al menos 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14, 26 o 27.

Lo más preferiblemente, la bacteria que tiene actividad inmunomoduladora puede ser una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32175, DSM32148, DSM32166, DSM32162, DSM32182, DSM32179 o DSM32212. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que tiene actividad inmunomoduladora, donde dicha bacteria que comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

La composición terapéutica de la divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que está en la lista de "más buscadas" de Human Microbiome Project (HMP). Los candidatos para bacterioterapia HMI\_1, HMI\_2, HMI\_4, HMI\_5, HMI\_7, HMI\_11, HMI\_12, HMI\_15, HMI\_16, HMI\_17, HMI\_18, HMI\_19, HMI\_35, HMI\_37, HMI\_38, HMI\_39, HMI\_45, HMI\_50 y HMI\_51 están en la lista de "más buscadas" de HMP.

Así, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez,

al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho o diecinueve bacterias que están en la lista de "más buscadas" de HMP. En una realización de la divulgación, las bacterias en la composición terapéutica pueden consistir en bacterias que están en la lista de "más buscadas" de HMP.

5 La bacteria que está en la lista de "más buscadas" de HMP puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 2, 4, 5, 7, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 34, 36, 37, 38, 44, 49 o 50.

10 Alternativamente, la bacteria que está en la lista de "más buscadas" de HMP puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 2, 4, 5, 7, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 34, 36, 37, 38, 44, 49 o 50.

15 Preferiblemente, la bacteria que está en la lista de "más buscadas" de HMP es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 1, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 11, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5, 14, 15, 17, 18 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 49, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2, 7, 12 o 44, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 34, 36 o 37, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 4 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 38.

25 Más preferiblemente, la bacteria que está en la lista de "más buscadas" de HMP es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 1, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 11, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 5 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada SEQ ID NO: 15, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 7, 12 o 44, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 34, 36, 37, 49, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 4 o 17, al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 2 o 38 o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 14 o 18.

35 Lo más preferiblemente, la bacteria que está en la lista de "más buscadas" de HMP es una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32191, DSM32147, DSM32175, DSM32153, DSM32158, DSM32151, DSM32150, DSM32162, DSM32194, DSM32163, DSM32205, DSM32195, DSM32219, DSM32261, DSM32212, DSM32220, DSM32221, DSM32223 o DSM32225. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria que está en la lista de "más buscadas" de HMP, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

La composición terapéutica de la divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que es una especie clave. Se espera que los candidatos para bacterioterapia HMI\_17, HMI\_23, HMI\_24, HMI\_25, HMI\_26, HMI\_27, HMI\_28, HMI\_29, HMI\_30, HMI\_31, HMI\_32, HMI\_45, HMI\_49, HMI\_51 y HMI\_52 sean especies clave.

45 Así, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce o quince bacterias que son especies clave. En una realización de la divulgación, las bacterias en la composición terapéutica pueden consistir en bacterias que son especies clave.

50 La bacteria que es una especie clave puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 44, 48, 50 o 51.

55 Alternativamente, la bacteria que es una especie clave puede ser una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 44, 48, 50 o 51.

Preferiblemente, la bacteria que es una especie clave es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 91% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 29, al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 24, al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 22 o 26, al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 23 o 50, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 30, 44 o 48, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16, 25 o 31 o al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 27, 28 o 51.

Más preferiblemente, la bacteria que es una especie clave es una bacteria que comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 22, 23 o 50, al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 29, al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 44, al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 16 o 48, al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 31, al menos 99% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en SEQ ID NO: 51 o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 24, 25, 26, 27, 28 o 30.

Lo más preferiblemente, la bacteria que es una especie clave es una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32163, DSM32165, DSM32169, DSM32168, DSM32178, DSM32182, DSM32179, DSM32180, DSM32184, DSM32181, DSM32183, DSM32221, DSM32263, DSM32225 o DSM32265. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria que es una especie clave, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

Además, o alternativamente, la composición terapéutica de la divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que se ha mostrado que está presente después de un FMT. Los candidatos para bacterioterapia a los que se aplica esto se indican en la Tabla 1. Por ejemplo, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece, al menos catorce, al menos quince, al menos dieciséis, al menos diecisiete, al menos dieciocho, al menos diecinueve, al menos veinte, al menos veintiuna o veintidós bacterias que se ha mostrado que están presentes después de un FMT. Por ejemplo la bacteria que se ha mostrado que está presente después de un FMT puede comprender un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 38, 40, 43, 44, 45, 46, 48 o 51. Preferiblemente, la bacteria que se ha mostrado que está presente después de un FMT es una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32165, DSM32169, DSM32168, DSM32178, DSM32182, DSM32179, DSM32180, DSM32184, DSM32181, DSM32183, DSM32262, DSM32211, DSM32219, DSM32261, DSM32220, DSM32226, DSM32217, DSM32221, DSM32218, DSM32224, DSM32263 o DSM32265. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria que se ha mostrado que está presente después de un FMT, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

Además, o alternativamente, la composición terapéutica de la divulgación puede comprender al menos una bacteria aislada que se espera que produzca uno o más metabolitos beneficiosos, tales como ácidos grasos de cadena corta (SCFA). Los candidatos para bacterioterapia a los que se aplica esto se indican en la Tabla 1. Por ejemplo, la composición terapéutica puede comprender al menos una, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, al menos ocho, al menos nueve, al menos diez, al menos once, al menos doce, al menos trece o catorce bacterias que producen uno o más metabolitos beneficiosos. Por ejemplo, la bacteria que produce uno o más metabolitos beneficiosos puede comprender un gen que codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 9, 12, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o 31. Preferiblemente, la bacteria que se espera que produzca uno o más metabolitos beneficiosos es una bacteria depositada en DSMZ con el número de registro DSM32148, DSM32150, DSM32164, DSM32177, DSM32165, DSM32169, DSM32168, DSM32178, DSM32182, DSM32179, DSM32180, DSM32184, DSM32181 o DSM32183. Alternativamente, la composición terapéutica de la presente divulgación puede comprender al menos una bacteria que produce uno o más metabolitos beneficiosos, donde dicha bacteria comprende un gen que codifica un ARNr 16S, donde dicho gen comprende una secuencia con al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 98,7%, al menos 99% o

100% de identidad de secuencia con la secuencia del gen que codifica el ARNs 16S en una bacteria depositada como la descrita anteriormente.

5 La bacteria aislada o las bacterias aisladas presentes en una composición terapéutica pueden constituir al menos 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 7%, 75%, 80%, 85% o 90% de la composición terapéutica en volumen o peso.

La composición terapéutica puede no comprender ningún otro ingrediente activo además de la bacteria aislada o las bacterias aisladas en cuestión, y opcionalmente un prebiótico. Así, el ingrediente activo de la composición terapéutica puede consistir en una o más bacterias aisladas divulgadas en el presente documento, y opcionalmente un prebiótico. Esto también se puede denominar un ingrediente activo definido.

10 La composición terapéutica de la presente invención no es un trasplante de microbiota fetal (FMT). Los FMT consisten habitualmente en una muestra de deposiciones de un donante humano sano que se administra directamente al receptor, p. ej. en forma de un enema, sin que se aislen bacterias presentes en la muestra de heces antes de la administración del FMT al receptor. Una ventaja de la composición terapéutica de la invención es que puede no comprender componentes indefinidos, que están presentes en FMT, permitiendo de ese modo que la composición terapéutica esté estandarizada e incrementando la seguridad.

15 La composición terapéutica de la presente divulgación se puede preparar mediante un método que comprende cultivar una o más bacterias aisladas presentes en la composición terapéutica en un medio o medios adecuados. Medios y condiciones adecuados para cultivar las bacterias que se van a incluir en la composición terapéutica de la presente divulgación se describen con detalle en otras partes en el presente documento. Por ejemplo, un método para preparar una composición terapéutica según la presente divulgación puede comprender las etapas de:

(i) cultivar una primera bacteria aislada;

(ii) opcionalmente cultivar una segunda bacteria aislada; y

25 (iii) mezclar las bacterias obtenidas en (i) y opcionalmente (ii) para preparar la composición terapéutica. Las bacterias aisladas que se van a incluir en la composición terapéutica se cultivan preferiblemente en etapas separadas. En otras palabras, preferiblemente se prepara un cultivo separado de cada bacteria que se vaya a incluir en la composición terapéutica. Esto permite controlar según se desee el crecimiento de cada bacteria a evaluar y la cantidad de cada bacteria a incluir en la composición farmacéutica. Las bacterias cultivadas en las etapas (i) y (ii) tienen preferiblemente secuencias de ARNs 16S distintas.

30 El método anterior puede incluir etapas de cultivo de cada bacteria aislada a incluir en la composición terapéutica. Así, p. ej., el método puede incluir etapas adicionales de cultivo de una tercera, cuarta, quinta, sexta, séptima, octava, novena y/o décima bacteria aislada distinta, según se requiera. De este modo, el método comprende etapas de cultivo de hasta 51 bacterias aisladas distintas. La bacteria o bacterias cultivadas mediante dicho método pueden ser cualquier bacteria divulgada en el presente documento.

35 El método puede comprender opcionalmente una o más etapas adicionales en las que las bacterias se mezclan con uno o más ingredientes adicionales, tales como un excipiente farmacéuticamente aceptable, prebiótico, vehículo, fibra insoluble, tampón, agente osmótico, agente antiespumante y/o conservante. Además, o alternativamente, el método puede comprender suspender las bacterias obtenidas en (i) y opcionalmente (ii) en un medio quimiostático o solución salina, p. ej. solución salina al 0,9%. Las bacterias obtenidas en (i) y opcionalmente (ii) se pueden proporcionar bajo una atmósfera reducida, tal como N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> o una de sus mezclas, p. ej. N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>. Los gases pueden estar presentes en las relaciones apropiadas para la conservación de las bacterias presentes en la composición terapéutica. Por ejemplo, la atmósfera reducida puede comprender 80% de N<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> y 10% de H<sub>2</sub>. Además, o alternativamente, el método puede comprender una etapa de liofilización de las bacterias obtenidas en (i) y opcionalmente (ii), opcionalmente en presencia de un estabilizador y/o crioprotector. El método también puede comprender una etapa de preparación de una cápsula, un comprimido o un enema que comprende las bacterias obtenidas en (i) y opcionalmente (ii). La cápsula o el comprimido puede estar revestido entéricamente, ser dependiente del pH, de liberación lenta y/o gastrorresistente.

45 La presente divulgación también abarca una composición terapéutica obtenible mediante u obtenida mediante un método como el divulgado en el presente documento. Esta composición terapéutica puede usarse además para un fin terapéutico, en un método terapéutico o para la fabricación de un medicamento, según se describe en el presente documento, tal como el tratamiento de una disbiosis, en particular una disbiosis del tracto gastrointestinal.

50 Se espera que las bacterias divulgadas en el presente documento sean adecuadas para el tratamiento de una disbiosis, en particular una disbiosis del tracto gastrointestinal. Sin querer limitarse por una teoría, se espera que la administración de una o más de las bacterias divulgadas en el presente documento a un individuo resuelva una disbiosis gastrointestinal, cuando esté presente, y/o prevenga la aparición de disbiosis gastrointestinal en el individuo. "Individuo", según se usa en el presente documento, se refiere a un individuo humano o paciente humano.

El tratamiento de una disbiosis puede referirse a la curación, la prevención o la mejora de una disbiosis o la mejora de al menos un síntoma asociado con disbiosis. Cuando la disbiosis está asociada con una enfermedad, tal como enteropatía inflamatoria, el tratamiento de la disbiosis se puede referir a la curación, la prevención o la mejora de dicha enfermedad o la mejora de al menos un síntoma asociado con dicha enfermedad.

- 5 Las composiciones terapéuticas de la presente invención encuentran así aplicación en el tratamiento de disbiosis del tracto gastrointestinal. Según esto, la invención proporciona una composición terapéutica según la invención para el uso en un método para tratar una disbiosis en un individuo.

"Disbiosis" en el contexto de la presente invención se refiere a un estado en el que la diversidad y/o la función normal de la microbiota o el microbioma, en particular la microbiota gastrointestinal humana, está alterada. Cualquier alteración del estado normal de la microbiota en un individuo sano se puede considerar una disbiosis, incluso si la disbiosis no da como resultado una disminución detectable en la salud del individuo. En una realización preferida, la disbiosis puede estar asociada con uno o más síntomas patológicos. Por ejemplo, "disbiosis" se puede referir a una disminución en la diversidad microbiana de la microbiota. Además, o alternativamente, "disbiosis" se puede referir a un incremento en la abundancia de una o más bacterias, p. ej. una o más bacterias patógenas, en la microbiota de un individuo con relación a la abundancia de dicha bacteria o bacterias en la microbiota de un individuo sano, es decir un individuo sin una disbiosis. Las bacterias patógenas presentes durante la disbiosis son a menudo Proteobacteria y resistentes a uno o más antibióticos. Ejemplos de Proteobacteria incluyen especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Vibrio*, *Helicobacter* y *Yersinia*.

La disbiosis puede ser una disbiosis asociada con una infección bacteriana entérica, tal como una infección del tracto gastrointestinal con una bacteria patógena. Muchas bacterias capaces de provocar infecciones del tracto gastrointestinal en seres humanos son conocidas e incluyen: bacterias grampositivas y bacterias gramnegativas. La bacteria patógena es preferiblemente una especie patógena del género *Clostridium*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Plesiomonas*, *Bacillus*, *Helicobacter*, *Listeria* o *Yersinia*. Ejemplos preferidos de estas bacterias patógenas incluyen *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides*, *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori*, *Listeria monocytogenes*, y *Yersinia enterocolitica*. Más preferiblemente, la bacteria patógena es una especie patógena del género *Clostridium* o *Escherichia*. Lo más preferiblemente, la bacteria patógena es *Clostridium difficile* o *Escherichia coli*.

La bacteria patógena puede ser resistente a uno o más antibióticos. Por ejemplo, la bacteria patógena, p. ej. *Clostridium difficile*, puede ser resistente a fluoroquinolonas. Además, o alternativamente, la bacteria patógena puede ser resistente a uno o más carbapenems. Los carbapenems son antibióticos usados para el tratamiento de infecciones por bacterias resistentes a múltiples fármacos (MDR), y ejemplos incluyen imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem y bia-penem.

El tratamiento de una disbiosis asociada con una infección con una bacteria patógena puede comprender reducir la abundancia de la bacteria patógena, p. ej. en el tracto gastrointestinal del individuo, con relación a la abundancia de la bacteria patógena antes del tratamiento.

La disbiosis puede ser una disbiosis recurrente o crónica. Por ejemplo, se sabe que *Clostridium difficile* da como resultado infecciones recurrentes en algunos individuos, reproduciéndose la infección una vez que se detiene el tratamiento antibiótico. Esto se puede denominar disbiosis recurrente o crónica.

Se sabe que la disbiosis del tracto gastrointestinal está asociada con, y se cree que representa un papel causal en, un número de diversas enfermedades, incluyendo enteropatía inflamatoria, síndrome del intestino irritable, una enfermedad metabólica, un trastorno neuropsiquiátrico, una enfermedad autoinmunitaria, un trastorno alérgico o un cáncer. Así, la disbiosis puede ser una disbiosis asociada con enteropatía inflamatoria, síndrome del intestino irritable, una enfermedad metabólica, un trastorno neuropsiquiátrico, una enfermedad autoinmunitaria, un trastorno alérgico, un cáncer o encefalopatía hepática. Ejemplos de enteropatía inflamatoria incluyen colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn.

Una enfermedad metabólica en la que se ha mostrado que representa un papel la disbiosis del tracto gastrointestinal incluye síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus tipo 2, una cardiopatía e hígado graso no alcohólico.

Un trastorno neuropsiquiátrico en el que se ha mostrado que la disbiosis del tracto gastrointestinal representa un papel incluye enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, mioclonía-distonía, autismo y síndrome de fatiga crónica.

Enfermedades autoinmunitarias en las que se ha mostrado que la disbiosis del tracto gastrointestinal representa un papel incluyen púrpura trombocitopénica idiopática, artritis, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico y tiroiditis de Hashimoto.

Un trastorno alérgico en que se ha mostrado que la disbiosis del tracto gastrointestinal representa un papel incluye atopía y asma.

Cánceres en los que se ha mostrado que la disbiosis del tracto gastrointestinal representa un papel incluyen cáncer colorrectal, tumores extraintestinales, tumores mamarios, carcinoma hepatocelular, linfoma, melanoma y cáncer de pulmón.

5 La composición terapéutica de la divulgación puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable, vehículo, tampón, estabilizador u otros materiales bien conocidos por los expertos en la técnica. Estos materiales deben ser atóxicos y no deben interferir con la eficacia de las bacterias aisladas presentes en la composición terapéutica. La naturaleza precisa del excipiente farmacéuticamente aceptable u otro material dependerá de la vía de administración, que puede ser oral o rectal. Muchos métodos para la preparación de composiciones terapéuticas son conocidos por los expertos en la técnica. Véase, p. ej., Robinson ed., Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

La composición terapéutica de la divulgación puede comprender un prebiótico, un vehículo, fibra insoluble, un tampón, un agente osmótico, un agente antiespumante y/o un conservante.

Los prebióticos pueden proporcionar nutrientes para las bacterias aisladas presentes en la composición terapéutica para ayudar a su crecimiento temprano y colonización después de la administración al individuo.

15 Se puede usar cualquier prebiótico conocido en la técnica. Ejemplos no limitativos de prebióticos incluyen oligosacáridos, p. ej., fructooligosacáridos tales como oligofruktosa e inulina, mananoligosacáridos y galactooligosacáridos, inulina soluble enriquecida en oligofruktosa, y fibra soluble. Las fibras insolubles se pueden incluir en la composición terapéutica como vehículo, p. ej., para proporcionar protección durante el transporte o el almacenamiento. Un tampón se puede incluir en la composición terapéutica para promover la viabilidad de las bacterias aisladas presentes. Un agente antifúngico se puede incluir en la composición terapéutica como un conservante.

20 La composición terapéutica se puede elaborar o proporcionar en un medio quimiostático. Alternativamente, la composición terapéutica se puede elaborar o proporcionar en solución salina, p. ej. solución salina al 0,9%. Se entenderá que se puede usar cualquier vehículo o solución que no deteriore la viabilidad de las bacterias presentes en la composición terapéutica y sea compatible con la administración a un individuo.

25 La composición terapéutica se puede elaborar o proporcionar bajo atmósfera reducida, es decir, en ausencia de oxígeno. La preparación de deposiciones sintéticas se puede elaborar o proporcionar bajo N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> o una de sus mezclas, opcionalmente con niveles controlados de presión parcial de N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>.

30 La composición terapéutica puede ser para administración oral o rectal al individuo. Cuando la composición terapéutica sea para administración oral, la composición terapéutica puede estar en forma de cápsula o comprimido. Cuando la composición terapéutica sea para administración rectal, la composición terapéutica puede estar en forma de enema. La preparación de cápsulas, comprimidos y enemas adecuados es bien conocida en la técnica. La cápsula o el comprimido puede comprender un revestimiento para proteger la cápsula o el comprimido del ácido estomacal. Por ejemplo, la cápsula o el comprimido puede estar revestido entéricamente, ser dependiente del pH, de liberación lenta y/o gastrorresistente. Estas cápsulas y comprimidos se usan, por ejemplo, para minimizar la disolución de la cápsula o el comprimido en el estómago pero permitir la disolución en el intestino delgado.

35 La composición terapéutica se puede liofilizar. La composición terapéutica liofilizada puede comprender uno o más estabilizadores y/o crioprotectores. La composición terapéutica liofilizada se puede reconstituir usando un diluyente adecuado antes de la administración al individuo.

40 Una composición terapéutica según la presente divulgación se puede administrar sola o en combinación con otros tratamientos, simultáneamente o secuencialmente o como una preparación combinada con otro agente o agentes terapéuticos, para el tratamiento de la disbiosis o una enfermedad asociada con la disbiosis según se describe en el presente documento. Por ejemplo, un conjugado de la divulgación se puede usar en combinación con un agente terapéutico existente para enteropatía inflamatoria, síndrome del intestino irritable, una enfermedad metabólica, un trastorno neuropsiquiátrico, una enfermedad autoinmunitaria, un trastorno alérgico, un cáncer o encefalopatía hepática.

45 Por ejemplo, cuando la composición terapéutica es para el tratamiento de una disbiosis asociada con cáncer, la composición terapéutica se puede administrar opcionalmente en combinación con una inmunoterapia para el cáncer, tal como un inhibidor del punto de control inmunitario, al individuo. Ejemplos de inhibidores del punto de control que se pueden emplear en este contexto incluyen inhibidores de proteína de muerte celular programada 1 (PD-1), inhibidores de ligando de muerte programada 1 (PD-L1), inhibidores de proteína asociada a linfocitos T 4 (CTLA-4). Se ha mostrado que la manipulación de la microbiota intestinal en combinación con tratamiento con inhibidores del punto de control inmunitario mejora la eficacia de los inhibidores del punto de control inmunitario en el tratamiento del cáncer (Snyder y cols., 2015). En una realización preferida, el cáncer en este contexto es cáncer de pulmón o melanoma. Los inhibidores del punto de control inmunitario han sido aprobados para el tratamiento de estos cánceres y se ha mostrado que la bacterioterapia mejora la eficacia de los inhibidores del punto de control inmunitario en el tratamiento del melanoma (Snyder y cols. 2015).

Las composiciones terapéuticas de la divulgación se pueden administrar a un individuo, preferiblemente un individuo humano. La administración puede ser en una "cantidad terapéuticamente eficaz", siendo esta suficiente para mostrar un beneficio al individuo. Este beneficio puede ser al menos la mejora de al menos un síntoma. Así, el "tratamiento" de una enfermedad específica se refiere a la mejora de al menos un síntoma. La cantidad real administrada, y la velocidad y la cronología de la administración, dependerá de la naturaleza y la gravedad de lo que se esté tratando, el paciente particular que se esté tratando, la afección clínica del paciente individual, la causa de la disbiosis, la zona de aporte de la composición, el tipo de composición terapéutica, el método de administración, el programa de administración y otros factores conocidos por los profesionales médicos. La prescripción del tratamiento, p. ej. las decisiones sobre la dosificación, etc., está dentro de la responsabilidad de los profesionales generales y otros médicos, y puede depender de la gravedad de los síntomas y/o la progresión de la enfermedad que se trate. Una cantidad terapéuticamente eficaz o dosis adecuada de una composición terapéutica de la divulgación se puede determinar comparando su actividad *in vitro* y su actividad *in vivo* en un modelo con animales. Se conocen métodos para la extrapolación de dosificaciones eficaces en ratones y otros animales de prueba a seres humanos. La dosis precisa dependerá de un número de factores, incluyendo si la composición terapéutica es para prevención o para tratamiento.

Aspectos y realizaciones adicionales de la divulgación serán evidentes para los expertos en la técnica dada la presente divulgación incluyendo la siguiente ejemplificación experimental.

A menos que el contexto dicte otra cosa, el singular incluye el plural.

"y/o", cuando se use en el presente documento, se ha de tomar como una divulgación específica de cada uno de los dos particularidades o componentes especificados con o sin el otro. Por ejemplo "A y/o B" se ha de tomar como una divulgación específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, justo como si cada uno se indicara individualmente en el presente documento.

### **Ejemplos**

#### **Ejemplo 1 — Identificación y aislamiento de candidatos para bacterioterapia**

##### *Materiales y métodos*

Se usaron dos enfoques diferentes para aislar especies bacterianas para la inclusión en una composición terapéutica para tratar la disbiosis. El primero se basaba en un enfoque de cultivo amplio procedente de donantes adultos sanos para establecer una colección de cultivos que sea tan representativa como sea posible del componente bacteriano de la microbiota intestinal de individuos sanos. Este procedimiento también incorporaba un enfoque de cultivo dirigido para seleccionar preferentemente bacterias que presenten un fenotipo o función particular, p. ej. la formación de esporas. El segundo enfoque era de naturaleza más dirigida y apuntaba a aislar especies bacterianas asociadas específicamente con la resolución de la disbiosis gastrointestinal al comparar la microbiota de individuos antes y después de un trasplante de microbiota fecal (FMT) administrado para resolver disbiosis asociada con infección por *C. difficile*. Estos dos enfoques se denominan respectivamente más adelante procedimiento de aislamiento de candidatos 1 (CIP1) y procedimiento de aislamiento de candidatos 2 (CIP2).

##### *Recogida de muestras y cultivo*

Para CIP1, se obtuvieron muestras fecales recientes de seis donantes humanos adultos sanos que han dado su consentimiento (una muestra fecal por donante – mínimo 0,5 g). Las muestras se pusieron en condiciones anaeróbicas en un plazo de una hora desde el pase para conservar la viabilidad de las bacterias anaeróbicas. Todo el procesamiento y el cultivo de las muestras tuvo lugar bajo condiciones anaeróbicas en una estación de trabajo Whitley DG250 (Don Whitley, West Yorkshire, Reino Unido) a 37°C. Los medios de cultivo, la solución salina tamponada con fosfato (PBS) y todos los otros materiales que se usaban para el cultivo se pusieron en la cabina anaeróbica 24 horas antes del uso. Las muestras fecales se dividieron en dos porciones. Una porción se homogeneizó en PBS reducida (0,1 g de defecaciones/ml de PBS) y se diluyó en serie y se sembró directamente sobre agar de YCFA (Duncan, Hold y cols. 2002) complementado con 0,002 g/ml de cada una de glucosa, maltosa y celobiosa en placas de Petri grandes (13,5 cm de diámetro). Esta muestra también se sometió a secuenciación metagenómica para obtener un perfil de toda la comunidad. La otra porción se trató con un volumen igual de etanol al 70% (v/v) durante 4 horas a temperatura ambiente bajo condiciones aeróbicas ambiente para destruir células vegetativas. A continuación, el material sólido se lavó 3 veces con PBS y finalmente se resuspendió en PBS. La siembra se realizó del mismo modo que se describe para las muestras no tratadas con etanol anteriores.

Para las muestras tratadas con etanol de CIP1, el medio se complementó con taurocolato sódico al 0,1% para estimular la germinación de esporas. Las colonias se recogieron 72 horas después de la siembra de placas de Petri de condiciones tanto tratadas con etanol como no tratadas con etanol que tienen crecimiento no confluyente (es decir placas sobre las que las colonias eran distintas y no se tocaban). Las colonias que se recogían se resembraban en estrías para confirmar la pureza.

Para CIP2, doce individuos que habían experimentado más de tres recurrencias de infección por *Clostridium difficile* (CDI), que habían fracasado en el tratamiento con metronidazol y vancomicina, se seleccionaron para un trasplante de microbiota fecal (FMT). Los donantes se cribaron con respecto a patógenos y otras infecciones virales según se

describe previamente (Landy, Al-Hassi y cols. 2011). Los pacientes interrumpían la vancomicina oral 1-2 días antes del FMT. El FMT se administró a los receptores mediante enema (n = 3), píldoras (n = 6), una combinación de ambas (n = 2, R8 y R10) o mediante infusión nasogástrica (n = 1, R7). Se recogieron muestras fecales de los pacientes 1-2 días después de detener el tratamiento con vancomicina (pre-FMT) y en diferentes momentos pos-FMT. También se recogieron de los donantes muestras de deposiciones usadas para FMT. También se incluyeron como controles muestras de individuos sanos e individuos infectados con *C. difficile* tratados con antibióticos. Las muestras fecales se recogieron en recipientes estériles y se congelaron a -80°C. Se extrajo ADN de todas las muestras para 454 secuenciaciones y análisis posterior según se describe más adelante.

Para el cultivo de muestras procedentes de receptores con trasplante de microbiota fetal (FMT) (CIP2), 50 mg de cada muestra fecal se mezclaron a fondo en 0,5 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) reducida estéril. El homogenado se diluyó en serie hasta 10<sup>-6</sup> y partes alícuotas de esta dilución se sembraron sobre un conjunto de medios bajo condiciones anaeróbicas. Se usaron los siguientes medios: agar anaeróbico de cultivo exigente (FAA, Lab M Ltd, Lancashire, Reino Unido) que contenía sangre de caballo desfibrinada al 2%, infusión de cerebro-corazón (BHI, Oxoid Reino Unido), de Man Rogosa Sharpe y agares de CCEY (Bioconnections, Reino Unido) con y sin la adición de 10 µg/ml de vancomicina (AppliChem, Alemania). Todos los medios sembrados se incubaron anaeróticamente a 37°C durante 48-72 horas excepto para el agar de BHI, que se incubó aeróticamente a 37°C durante 24-48 horas.

#### *Obtención del perfil y secuenciación de la microbiota*

La identificación de cada aislado cultivado se realizó mediante amplificación por PCR del cebador directo (usando 7F (5'-AGAGTTTGATYMTGGCTCAG-3') y el cebador inverso 1510R (5'-ACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') del gen de ARNs 16S de longitud completa seguida de secuenciación capilar. Tanto para CIP1 como para CIP2, las lecturas del gen ARNs 16S se alinearon en the Ribosomal Database Project (RDP) y se curaron manualmente en ARB (Ludwig, Strunk y cols. 2004). Para CIP1, se usó el paquete R seqinr versión 3.1 para determinar la similitud de secuencia entre las secuencias del gen de ARNs 16S y, a medida que se generaban lecturas de la secuencia de ARNs 16S de longitud completa, se usó 98,7% como el corte a nivel de especie para clasificar lecturas a unidades taxonómicas operativas (OTU) (Bosshard, Abels y cols. 2003, Clarridge 2004). A medida que se generaban lecturas de secuencia del gen de ARNs 16S de longitud solo parcial para posibles bacterias a partir de CIP2, se usó 97% como el corte a nivel de especie (Bosshard, Abels y cols. 2003, Clarridge 2004) y las OTU en este corte se determinaron usando Mothur (Schloss, Westcott y cols. 2009). Tanto para CIP1 como para CIP2, la secuencia del gen de ARNs 16S de cada OTU a nivel de especie se comparó a continuación con la base de datos de referencia de the Ribosomal Database Project (RDP) para asignar denominaciones taxonómicas a nivel de género (Wang, Garrity y cols. 2007). A continuación, se realizó una búsqueda BLASTn con las secuencias del gen de ARNs 16S para determinar si la OTU representaba bien una especie previamente caracterizada o bien una nueva (Altschul, Gish y cols. 1990).

Las comparaciones de las OTU con la lista de "Más buscadas" de the Human Microbiome Project (HMP) y la base de datos de genomas de referencia se llevaron a cabo usando 97% de identidad de secuencia de las secuencias del gen de ARNs 16S para definir una especie bacteriana debido a que estaban disponibles secuencias del gen de ARNs 16S solo parciales para las bacterias en la lista de "Más buscadas" del HMP y las bases de datos de genomas de referencia. Los datos de HMP referentes a los taxones más buscados y los proyectos de secuenciación completos se descargaron de los taxones "más buscados" de the NIH Human Microbiome Project de the Human Microbiome for Whole Genome Sequencing (Web 8 de marzo de 2016 <[http://hmpdacc.org/most\\_wanted/#data](http://hmpdacc.org/most_wanted/#data)>) y los datos de genomas de referencia de the NIH Human Microbiome Project (Web 8 de marzo de 2016 <<http://hmpdacc.org/HMRGD/>>), respectivamente. El ADN genómico se extrajo de al menos un representante de cada OTU única usando un procedimiento de aislamiento de ADN a base de fenol-cloroformo. El ADN se secuenció en la plataforma Illumina HiSeq generando longitudes de lectura de 100 pb y estas se ensamblaron y anotaron para análisis posterior.

También se extrajo ADN directamente de cada muestra fecal para la secuenciación metagenómica de toda la comunidad y de amplicones del gen de ARNs 16S usando el FastDNA SPIN Kit for Soil de MP Biomedical. Para permitir comparaciones con las muestras de la comunidad completa, se rascaron cultivos no confluentes de placas de agar 72 horas después de la inoculación con la muestra fecal inicial y se extrajo ADN de esta comunidad usando el mismo procedimiento de aislamiento de ADN. Se elaboraron bibliotecas de amplicones del gen de ARNs 16S mediante amplificación por PCR de las regiones variables 1 y 2 del gen de ARNs 16S usando el Q5 High-Fidelity Polymerase Kit suministrado por New England Biolabs. Se usaron los cebadores 27F AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC TATGGTAATT CC AGMGTTYGATYMTGGCTCAG (1ª parte = adaptador de Illumina, 2 = amortiguador del cebador directo, 3ª = conector del cebador directo y 4ª = cebador directo) y 338R CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT ACGAGACTGATT AGTCAGT-CAG AA GCTGCCTCCCGTAGGAGT (1ª parte = complemento inverso del adaptador de Illumina 3', 2ª = código de barras de Golay, 3ª = amortiguador del cebador inverso, 4ª = conector del cebador inverso y 5ª = cebador inverso). Se llevaron a cabo cuatro amplificaciones por PCR por muestra; los productos se reunieron y se combinaron en cantidades equimolares para secuenciación usando la plataforma Illumina MiSeq, generando lecturas de 150 pb.

Para la secuenciación de 454 amplicones de las muestras fecales derivadas de CIP2, se extrajo ADN directamente de las muestras fecales (70 mg) usando the FastDNA Spin Kit for Soil en un instrumento Fastprep (MP Biomedicals, EE. UU. de A.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las regiones V3-V5 del gen de ARNs 16S se amplificaron

usando los cebadores con código de barras 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') y 926R (5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT-3') adaptados con conectores. El termociclado implicaba una etapa de desnaturalización de 2 minutos inicial a 94°C seguida de 20 ciclos de desnaturalización (94°C durante 30 s), reasociación (53°C durante 30 s) y alargamiento (68°C durante 2 min). Los productos de PCR se purificaron usando the Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Reino Unido) siguiendo el protocolo del fabricante y se cuantificaron usando Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies, Reino Unido). Volúmenes equimolares de cada uno de los productos depurados de cada reacción de PCR se secuenciaron en la plataforma 454 FLX-Titanium de Roche.

#### *Análisis de la microbiota*

Se generó una filogenia de máxima probabilidad de las bacterias derivadas de cultivo a partir de CIP1 a partir de la secuencia RDP alineada usando FastTree versión 2.1.3 (Price, Dehal y cols. 2010) con los siguientes ajustes: un modelo reversible en el tiempo generalizado (GTR) de sustitución de nucleótidos y aproximación CAT de la variación en las tasas en todos los sitios con 20 categorías de tasa. La filogenia resistente a etanol se derivaba directamente de la filogenia de todo el cultivo. Todos los árboles filogenéticos se editaron en ITOL (Letunic y Bork 2011).

Se llevó a cabo un análisis de la secuencia parcial del gen de ARNs 16S generada a partir de las bibliotecas de amplicones del gen de ARNs 16S procedentes de las muestras fecales derivadas de CIP1 usando the mothur MiSeq SOP (Kozich, Westcott y cols. 2013) el 29 de agosto de 2014, identificando 7549 OTU en todas las muestras. Se usó de nuevo un umbral de identidad de secuencia de  $\geq 97\%$  para definir una OTU.

Para el análisis de 454 secuencias a partir de muestras fecales derivadas de CIP2, las lecturas de secuencias se recortaron, se filtraron y se preprocesaron usando el *software* Mothur 454 SOP consultado en noviembre de 2012 (Schloss, Westcott y cols. 2009, Schloss, Gevers y cols. 2011). Para asegurar datos de secuencias de alta calidad para el análisis, las secuencias se recortaron usando un tamaño de intervalo de 50 pb (puntuación de calidad promedio de 35 pb), los homopolímeros  $> 8$  pb se retiraron y no se permitieron bases ambiguas o discrepancias en la secuencia del cebador. Las lecturas de secuencias redundantes se retiraron para generar secuencias únicas, que se alinearon a la base de datos de alineación SILVA (Pruesse, Quast y cols. 2007). Estas secuencias alineadas se cribaron para asegurar que las secuencias se superponían en el mismo espacio de alineamiento usando el comando screen.seqs en Mothur. Se generaron de nuevo secuencias únicas y las secuencias se preagruparon para retirar secuencias que eran probables debido a errores de pirosecuenciación (Huse, Dethlefsen y cols. 2008). Las secuencias químéricas se retiraron usando Perseus (Quince, Lanzen y cols. 2011) y también se retiraron otros contaminantes tales como cloroplastos y mitocondrias. Se consideró que las secuencias con  $\geq 97\%$  de identidad de secuencia y su taxonomía asignada de nivel de filo a género según las bases de datos de the Ribosomal Database Project (RDP) (Cole, Wang y cols. 2014) y SILVA (Pruesse, Quast y cols. 2007) pertenecían a las mismas unidades taxonómicas operativas (OTU). La diversidad de especies en cada muestra se midió calculando el índice de diversidad de Shannon (SDI), que tiene en cuenta tanto la riqueza de la especie como la abundancia proporcional relativa (Schloss, Westcott y cols. 2009). A continuación, las OTU se usaron para agrupar dendrogramas, usando la calculadora de Bray Curtis en el paquete Mothur. Se realizaron otros análisis, tales como el índice de Invsimpson, el análisis de los componentes principales (PCA) y el método de UniFrac para comparar comunidades microbianas según se describe previamente usando el *software* Mothur (Lozupone y Knight 2005, Lawley, Clare y cols. 2012).

#### *Análisis metagenómico*

La abundancia microbiana se calculó usando the Human Pan-Microbe Community Database (Forster, Browne y cols. 2015) frente a 1883 individuos sanos (3218 muestras) y 458 individuos enfermos (628 muestras). La presencia se calculó como más de 1000 lecturas normalizadas independientes con abundancia calculada con relación a las lecturas de alta calidad totales dentro de la muestra. La identificación de la resistencia antimicrobiana y el factor de virulencia se realizaron usando la búsqueda de homología de secuencia automatizada frente a secuencias proteínicas anotadas en la secuencia del genoma completo. La lista de referencia de resistencia antimicrobiana se definió basándose en la base de datos antimicrobiana exhaustiva (McArthur, Wagglechner y cols. 2013) mientras que las toxinas se identificaron por la presencia en the Database of Bacterial Exotoxins for Humans (DBETH) (Chakraborty, Ghosh y cols. 2012).

#### *Configuración y resultados experimentales*

Los inventores establecieron métodos para aislar e identificar bacterias para la incorporación en una composición terapéutica adaptada para el tratamiento de disbiosis del tracto gastrointestinal, así como, p. ej., infecciones entéricas, tales como, pero no limitadas a, las provocadas por *Clostridium difficile*. Según se menciona anteriormente, se emplearon dos enfoques diferentes para adquirir candidatos bacterianos para la inclusión en un agente terapéutico. El primero (CIP1) se basaba en un enfoque de cultivo amplio a partir de donantes adultos sanos para establecer una colección de cultivos que es tan representativa como sea posible del componente bacteriano de la microbiota intestinal humana sana. Este procedimiento también incorporaba un enfoque de cultivo dirigido para seleccionar preferentemente bacterias que presentan un fenotipo o función particulares, p. ej. formación de esporas. El segundo procedimiento (CIP2) era de naturaleza más dirigida y apuntaba a adquirir especies bacterianas asociadas específicamente con la resolución de la disbiosis gastrointestinal al comparar individuos antes y FMT para resolver disbiosis asociada a *C. difficile*. Estos dos enfoques se describen con más detalle a continuación.

*CIP1 – enfoque de cultivo amplio para identificar candidatos terapéuticos:*

Los inventores buscaron en primer lugar establecer un flujo de trabajo basado genómicamente que se pudiera usar como una plataforma para el cultivo dirigido de fenotipos bacterianos específicos (Figura 1). Se recogieron muestras fecales recientes de 6 seres humanos sanos y se definieron las comunidades bacterianas residentes con un enfoque combinado de secuenciación metagenómica y cultivo bacteriano.

Aplicando la secuenciación metagenómica indiscriminada, los inventores perfilaron y compararon las especies bacterianas presentes en las muestras fecales originales con las de aquellas que crecían como colonias distintas sobre placas de agar que contenían el medio bacteriológico complejo de gama amplia, YCFA (Duncan, Hold y cols. 2002) complementado con glucosa, maltosa y celobiosa. De forma importante, se observaba una fuerte correlación entre las dos muestras a nivel de especie (ro de Spearman = 0,75,  $p < 0,01$ ) (Figura 2). Cuando se secuenciaban, la muestra fecal original y la comunidad bacteriana cultivada compartían un promedio de 93% de lecturas brutas en los 6 donantes.

Estos resultados demuestran que, sorprendentemente, y contrariamente a la idea establecida en la técnica, una proporción significativa de las bacterias dentro de la microbiota fecal se puede cultivar con un solo medio de crecimiento. Así, se estableció un método de cultivo de gama amplia que, cuando se combinaba con archivo de alto rendimiento o selección fenotípica específica, se puede utilizar para aislar e identificar nuevas bacterias del tracto gastrointestinal humano.

La microbiota intestinal humana está dominada por bacterias anaerobias estrictas que son extremadamente sensibles al oxígeno ambiental. Ciertos miembros de las Firmicutes, incluyendo *Clostridium difficile*, producen esporas metabólicamente latentes y muy resistentes durante la colonización que facilitan tanto la persistencia dentro del anfitrión como la transmisión ambiental (Lawley, Clare y cols. 2009, Francis, Allen y cols. 2013, Janoir, Deneve y cols. 2013). Hasta la fecha, se han cultivado relativamente pocas bacterias esporulantes intestinales y, aunque los estudios metagenómicos sugieren que otros miembros inesperados de la microbiota intestinal poseen genes de esporulación potenciales, siguen estando poco caracterizadas (Galperin, Mekhedov y cols. 2012, Abecasis, Serrano y cols. 2013, Meehan y Beiko 2014, Rajilic-Stojanovic y de Vos 2014).

Los inventores establecieron como hipótesis que la esporulación podría ser un fenotipo básico no apreciado de la microbiota intestinal humana que puede tener un profundo impacto sobre la persistencia y la expansión de la microbiota entre seres humanos. La formación de esporas también se considera deseable para formulaciones de bacterioterapia ya que la naturaleza resistente de la estructura de las esporas promovería la supervivencia del medicamento durante la producción y el almacenamiento posterior. Las esporas de *C. difficile* son resistentes a etanol y este fenotipo se puede usar para seleccionar esporas de una población mixta de esporas y células vegetativas sensibles a etanol (Riley, Brazier y cols. 1987). Se procesaron muestras fecales con o sin tratamiento con etanol usando el flujo de trabajo combinado de cultivo y metagenómico de los presentes inventores (Figura 1). El análisis de los componentes principales demostraba que el tratamiento con etanol alteraba profundamente la composición bacteriana cultivable y, cuando se comparaba con el perfil original, enriquecía eficazmente las bacterias resistentes a etanol, facilitando su aislamiento (Figura 3). Se recogieron ~2.000 colonias bacterianas individuales de condiciones tanto tratadas con etanol como no tratadas con etanol, se resembraron en estrías hasta pureza y se realizó la secuenciación del gen de ARNs 16S de longitud completa para permitir la caracterización taxonómica. A continuación, los taxones únicos se archivaron como reservas congeladas para futuro análisis fenotípico.

En total, se archivaron bacterias que representaban 96% de la abundancia bacteriana a nivel de género y 90% de la abundancia bacteriana a nivel de especie basándose en la abundancia relativa promedio en los 6 donantes (Figura 4A y 4B). Incluso los géneros que estaban presentes a baja abundancia relativa promedio (<0,2%) se aislaban y purificaban (Figura 4C). Se aislaron especies resistentes a etanol de 5 familias conocidas (*Clostridiaceae*, *Peptostreptococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* y *Erysipelotrichaceae*) y 2 posibles familias nuevamente identificadas (aislados bacterianos HMI\_1 y HMI\_22) (véase la Tabla 1 para los detalles). La identificación de estos formadores de esporas nuevos e inesperados destaca la amplia distribución taxonómica de este fenotipo entre las especies entéricas de las Firmicutes. En general, se archivaron 137 especies bacterianas distintas incluyendo 45 posibles nuevas especies y aislados que representan 20 posibles nuevos géneros y 2 posibles nuevas familias (Figura 5). La colección de los presentes inventores contiene 90 especies de la lista de 'más buscadas' de the Human Microbiome Project (HMP) de microbios previamente no cultivados y no secuenciados (Fodor, DeSantis y cols. 2012). 19 de los aislados bacterianos depositados listados en la Tabla 1 se incluyen en la lista de "Más Buscadas" de HMP, a saber: HMI\_1, HMI\_2, HMI\_4, HMI\_5, HMI\_7, HMI\_11, HMI\_12, HMI\_15, HMI\_16, HMI\_17, HMI\_18, HMI\_19, HMI\_35, HMI\_37, HMI\_38, HMI\_39, HMI\_45, HMI\_50 y HMI\_51 (véase la Tabla 1 para los detalles). Así, el enfoque del cultivo basado en YCFA de gama amplia condujo al descubrimiento de grandes números de nuevas bacterias (incluyendo nuevas familias, géneros, especies y aislados) y desafía la percepción predominante en la técnica de que la mayoría de la microbiota intestinal es "incultivable"

*CIP2: Identificación dirigida de candidatos para resolver disbiosis gastrointestinal*

Según se describe anteriormente, el FMT ha resultado eficaz para resolver CDI. Por lo tanto, los inventores buscaron el cultivo a partir de muestras fecales procedentes de donantes y receptores de FMT para aislar posibles bacterias

que pudieran usarse en terapia. Se probó un conjunto de diferentes medios microbiológicos para recuperar la gama más amplia de especies bacterianas de las muestras fecales (véase Métodos). Este enfoque permitía el cultivo y el archivo de candidatos bacterianos. Se cultivaron más de 2600 aislados bacterianos y, usando secuenciación del gen de ARNs 16S, estos se clasificaron taxonómicamente (Figura 7). Estos aislados bacterianos eran miembros de los 4 fillos principales (Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria y Firmicutes) en la microbiota intestinal. Estos aislados bacterianos representaban más de 350 OTU diferentes basándose en alineamientos de la longitud parcial del gen de ARNs 16S de longitud parcial.

#### *Análisis informático de posibles bacterias:*

Habiendo establecido una colección de cultivos a través de los dos enfoques descritos anteriormente (CIP1 y CIP2), los inventores buscaron a continuación cribar estas bacterias para identificar candidatos bacterianos para bacterioterapia.

Los inventores buscaron en primer lugar analizar los aislados cultivados procedentes de donantes y receptores de FMT. A de uno a tres meses después del FMT, los perfiles de microbiota fecal de los receptores eran similares a los de los donantes y los controles sanos. En particular, las abundancias relativas de los cuatro fillos bacterianos principales en la microbiota intestinal también eran similares en todos estos grupos. La estructura de la comunidad de la microbiota en los donantes y los receptores (antes y después del FMT) se visualizó para la evaluación usando el análisis de los componentes principales (PCA) (Figura 6). El gráfico de PCA demuestra la presencia de dos perfiles de composición distintos que representan una microbiota "asociada a salud" y una microbiota "de vancomicina". El perfil de microbiota asociada a salud contenía muestras procedentes de donantes de FMT, controles sanos y receptores de FMT a los 2-3 meses después del tratamiento. El perfil de microbiota "de vancomicina" estaba separado de la microbiota asociada a salud por el Componente Principal 1 y solo contenía individuos tratados con vancomicina. Estos individuos de control de vancomicina se infectaban con *C. difficile* mientras tomaban antibióticos para tratar otros estados patológicos. Adicionalmente, el perfil "asociado a metronidazol" estaba separado del perfil "asociado a salud" por el Componente Principal 2 y contenía muestras procedentes de pacientes infectados con *C. difficile* tratados con metronidazol.

Los perfiles donante-receptor de cada par se compararon antes y después del FMT para identificar taxones que estaban presentes en la muestra del donante, y que aumentaban en abundancia relativa en el perfil del receptor después del FMT. Se detectó un total de 786 OTU procedentes de todas las muestras de receptores después del FMT pero las OTU de los singulones presentes en los diferentes puntos temporales se retiraron. Esto daba como resultado 375 OTU para un análisis adicional. Dado que la recurrencia de CDI se produce típicamente 3-4 semanas después de la suspensión del tratamiento antibiótico (Cornely, Miller y cols. 2012, Abujamel, Cadnum y cols. 2013), las OTU que aumentaban en abundancias proporcionales relativas a los 2-3 meses después del FMT se analizaban adicionalmente.

Posteriormente, los inventores emprendieron un análisis informático para cribar adicional los candidatos para bacterioterapia de ambos enfoques de cultivo de los presentes inventores (CIP1 y CIP2). Según se describe anteriormente, una microbiota intestinal sana se basa en una comunidad microbiana diversa y abundante. Usando las secuencias del genoma completo que los inventores generaban a partir de aislados bacterianos procedentes de CIP1 y CIP2, los inventores determinaron por ordenador su prevalencia en individuos sanos y enfermos en conjuntos de datos metagenómicos públicos usando la herramienta de la base de datos de HPMC (Forster, Browne y cols. 2015). Las posibles bacterias se filtraron en primer lugar para incluir solo los aislados con más de 0,001% de abundancia promedio dentro de la comunidad bacteriana en todos los individuos sanos en los que se detectaban (Figura 8). Todas las bacterias depositadas en DSMZ tenían así más de 0,001% de abundancia promedio dentro de la comunidad bacteriana en todos los individuos sanos en los que se detectaban (véase la Tabla 1). Además de estar asociados con la salud, se espera que los candidatos preferidos para aplicaciones de bacterioterapia mejoren la disbiosis gastrointestinal. Para identificar estos candidatos, se examinó la distribución de cada uno de los aislados de los presentes inventores en conjuntos de datos metagenómicos disponibles públicamente. Las especies bacterianas cuya abundancia promedio total se disminuía sustancialmente (una disminución de más de cuatro veces) en individuos con disbiosis gastrointestinal con relación a individuos sanos se seleccionaron y se sometieron a un análisis adicional según se describe posteriormente (Figura 9). Todas las bacterias depositadas en DSMZ mostraban así una disminución en la abundancia promedio total (una disminución de más de cuatro veces) en individuos con disbiosis gastrointestinal con relación a individuos sanos (véase la Tabla 1).

La lista de candidatos para bacterioterapia se analizó adicionalmente basándose en la resistencia antimicrobiana (AMR) y los factores de virulencia predichos por ordenador. Se incluyeron los candidatos para bacterioterapia con puntuaciones de resistencia global predichas por debajo de 20% de las puntuaciones de resistencia global predichas de los patógenos conocidos *C. difficile*, *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli*. Los candidatos también se seleccionaron con respecto a la ausencia de resistencia predicha informáticamente a beta-lactamas, ácido fusídico, elfamicina, aminoglucósido, fosfomicina y tunicamicina y por la ausencia de toxinas conocidas según se lista en Chakraborty A. y cols., 2012, A Database of Bacterial Exotoxins for Humans (DBETH). Basándose en este análisis, los inventores identificaron 51 candidatos para el uso en bacterioterapia a partir de CIP1 y CIP2 (véase la Tabla 1). 10 de estos candidatos para bacterioterapia se identificaron usando CIP2, a saber: HMI\_23, HMI\_24, HMI\_25, HMI\_26, HMI\_27, HMI\_28, HMI\_29, HMI\_30, HMI\_31 y HMI\_32 (véase la Tabla 1 para los detalles). Estos 10 aislados se cultivaron a partir de donantes sanos. Los candidatos para bacterioterapia restantes se identificaron usando CIP1.

Los candidatos para bacterioterapia identificados usando CIP1 y CIP2, con la excepción de HMI\_17, se sometieron a continuación a análisis *in vitro* para establecer su eficacia terapéutica en el tratamiento de una infección por *C. difficile* y *E. coli* según se describe en el Ejemplo 2 posteriormente.

#### Ejemplo 2 — Análisis *in vitro* de candidatos para bacterioterapia

##### 5 *Detección de actividades antipatogénicas de los candidatos para bacterioterapia mediante un ensayo de superposición*

Los aislados bacterianos de interés identificados en el Ejemplo 1 se sembraron en estrías en forma de "X" sobre la superficie de una placa de Petri estándar que contenía agar de YCFA calentado y reducido. A continuación, estas placas inoculadas se incubaron anaeróbicamente a 37°C durante de 3 a 6 días, hasta que el crecimiento bacteriano era claramente visible. El agar de superposición se preparó añadiendo agar al 0,8% a un caldo apropiado. Para *C. difficile*, se usó caldo de BHI + agar al 0,8%. Para *E. coli*, se preparó LB + agar al 0,8%. El agar de superposición se mantuvo fundido a 50°C antes de usar. El agar de superposición se inoculó (1% de inóculo) con una parte alícuota de un cultivo turbio del patógeno de interés, en este caso bien *C. difficile* M7404 o bien *E. coli* (AIEC). Una parte alícuota de 10 ml del agar de superposición inoculado se añadió a la superficie de las placas de agar que tienen cada cepa comensal de interés. El agar de superposición se dejó solidificar y las placas se incubaron anaeróbicamente a 37°C durante de uno a dos días. Después de la incubación, podían observarse zonas de aclaramiento si la cepa comensal de interés era capaz de inhibir el crecimiento del patógeno en la capa de superposición. La anchura de cada zona de aclaramiento se midió con una regla según se muestra en la Figura 10. Los resultados se muestran en la Figura 11

##### *Detección de la actividad antipatogénica mediante un ensayo de inhibición del crecimiento relativo de CFS.*

Se hicieron crecer candidatos para bacterioterapia en partes alícuotas de 1 ml de caldo de YCFA reducido a 37°C bajo condiciones anaeróbicas durante dos días. Se preparó sobrenadante libre de células (CFS) al centrifugar cada cultivo para retirar las bacterias y hacer pasar el sobrenadante resultante a través de un filtro de 0,22 µm para esterilizarlo. Caldo de YCFA no inoculado también se esterilizó mediante filtración. Los CFS y las partes alícuotas de YCFA filtradas se congelaron a -20°C hasta que se necesitaban. Estos filtrados se descongelaron bajo condiciones anaeróbicas a 37°C y una parte alícuota de 100 µl de cada CFS se añadió a un pocillo de una placa de 96 pocillos de fondo plano. Se rellenaron varios pocillos con caldo de YCFA esterilizado por filtración para servir como controles positivos para el crecimiento de patógenos. Cada pocillo se inoculó (2-5% de inóculo) con un cultivo turbio de *C. difficile* M7404 en fase exponencial temprana-media. Alternativamente, se usó un inóculo al 5% de un cultivo de *E. coli* en fase estacionaria ajustado hasta OD<sub>600</sub> = 1. La placa de 96 pocillos se selló con una película ópticamente transparente y se transfirió a un lector de microplacas FLUOstar Omega (BMG Labtech). La placa se incubó en estático a 37°C en el lector de placas y se tomaron lecturas de la OD<sub>600</sub> cada 10 min. durante 18,17 horas. La placa se agitó durante 10 segundos antes de que se tomara cada lectura de OD. Se probaron todos los aislados, excepto HMI 17.

El crecimiento relativo de patógeno de interés en cada uno de los CFS se calculó a continuación como sigue: Para cada CFS probado, cualquier valor de datos brutos se expresó con relación a su lectura de OD<sub>600</sub> que se tomaba en el punto temporal de diez minutos. Esta normalización de datos permitía la comparación directa del crecimiento de *C. difficile* o *E. coli* en los diversos CFS al dejar de considerar la variación inherente inicial en la densidad óptica de los CFS (debido a la fermentación de los medios). El crecimiento relativo alcanzado en el punto temporal de 18,17 h por *C. difficile* o *E. coli* en cada uno de los CFS se comparó con el crecimiento relativo del patógeno de interés que se alcanzaba en caldo de YCFA. Una cepa comensal se consideraba un inhibidor potencial de *C. difficile* o *E. coli* si el crecimiento relativo más dos desviaciones estándar del patógeno de interés en el CFS derivado de ese mismo aislado comensal era menor de la media menos dos desviaciones estándar del crecimiento relativo del patógeno en caldo de YCFA. Cuando solo estaba disponible un valor del crecimiento relativo, un CFS se consideraba potencialmente inhibidor si el crecimiento relativo de patógeno estaba más de dos desviaciones estándar por debajo del crecimiento relativo medio en caldo de YCFA. Los resultados para candidatos para bacterioterapia que se encuentra que tienen actividad inhibidora se muestran en la Figura 12.

##### 45 *Resultados*

Un resumen de los resultados obtenidos en los ensayos de superposición del crecimiento e inhibición del crecimiento se muestra en la Figura 13 y la Tabla 1. Los candidatos para bacterioterapia que mostraban actividad en cada uno de los ensayos *in vitro* se indican en esta figura.

De los 50 candidatos para bacterioterapia probados, 22 demuestran inhibición del crecimiento de al menos una de *C. difficile* M7404 o *E. coli* (AIEC) en uno de los ensayos realizados. 11 de los candidatos para bacterioterapia inhibían el crecimiento de al menos uno bien de *C. difficile* o bien de *E. coli* en ensayos de superposición, sugiriendo que la inhibición conferida por estos candidatos para bacterioterapia es directa. Según los datos del ensayo de superposición, 5 de los candidatos para bacterioterapia inhiben solo el crecimiento bien de *C. difficile* o bien de *E. coli*, sugiriendo que la actividad inhibidora de estos candidatos para bacterioterapia no es genérica, es decir que la actividad inhibidora es específica para una o más bacterias patógenas.

De los 50 candidatos para bacterioterapia probados, 6 inhibían el crecimiento tanto de *C. difficile* como de *E. coli* en ensayos de superposición, sugiriendo que tienen un amplio espectro de actividad inhibidora y es probable que también tengan actividad inhibidora contra otras bacterias patógenas.

Los resultados del ensayo de inhibición del crecimiento relativo de CFS demuestran que el CFS procedente de 16 de los 50 candidatos para bacterioterapia probados solo soportaba el crecimiento relativo de *C. difficile* hasta niveles más de dos desviaciones estándar por debajo del crecimiento relativo medio en caldo de YCFA en el punto temporal de 18,17 h. Se considera así que estos candidatos para bacterioterapia inhiben el crecimiento de *C. difficile*. También se mostraba que 5 de estos candidatos para bacterioterapia inhibían directamente el crecimiento de *C. difficile* y/o *E. coli* en los ensayos de superposición. Esto sugiere que estos 5 candidatos para bacterioterapia secretan una o más sustancias que inhiben el crecimiento de estas bacterias patógenas. Es probable que los 11 candidatos para bacterioterapia restantes que mostraban actividad inhibitoria en el ensayo de inhibición del crecimiento relativo de CFS compitan con *C. difficile* por los nutrientes. El CFS procedente de dos de los candidatos para bacterioterapia no soportaba el crecimiento de *E. coli* hasta dentro de dos desviaciones estándar del crecimiento medio observado para *E. coli* en caldo de YCFA. Por lo tanto, se considera que estos aislados inhiben el crecimiento de *E. coli*.

### Ejemplo 3 – Análisis informático de redes de coabundancia

Para identificar bacterias que, aunque no sean capaces de inhibir directamente el crecimiento de patógenos según se muestra en el Ejemplo 2, pueden soportar el crecimiento o la supervivencia de las bacterias que exhibían inhibición directa del crecimiento de patógenos en el Ejemplo 2, se realizó un análisis de redes de coabundancia.

Este análisis se realizó como se describe previamente usando la lista completa de conjuntos de datos sanos en la herramienta de la base de datos de HPMC (Forster, Browne y cols. 2015). Para cada posible bacteria que demuestre inhibición del crecimiento de patógenos en el Ejemplo 2, se generaba una lista completa de especies vecinas en primer grado que exhibían coexistencia con la posible bacteria en al menos 95% de las muestras fecales con una abundancia promedio mayor que 0,001% y un mínimo de 100 lecturas. Se predice que las bacterias que exhibían coexistencia amplia con posibles bacterias que exhiben actividad inhibitoria directa del crecimiento de patógenos proporcionan una función de apoyo metabólica, ambiental y/o inmunomoduladora requerida para la colonización del tracto gastrointestinal por las posibles bacterias. Las bacterias depositadas que demuestran esta coexistencia de indican en la Tabla 1.

### Examen

Se espera que los aislados bacterianos que inhibían el crecimiento de una o más bacterias patógenas según se muestra en el Ejemplo 2 sean adecuados para tratar disbiosis gastrointestinal en seres humanos.

Sin embargo, todavía se espera que los aislados bacterianos que no mostraban evidencia de inhibición de patógenos en el Ejemplo 2 sean útiles para el tratamiento de la disbiosis gastrointestinal.

En primer lugar, basándose en los datos de coexistencia obtenidos en el Ejemplo 3, se espera que un gran número de bacterias depositadas apoyen la colonización del tracto gastrointestinal por las bacterias inhibitorias identificadas en el Ejemplo 2 a través de interacción directa o indirecta. Las redes metabólicas en las que consorcios de bacterias prosperan mediante alimentación cruzada, las redes estructurales, tales como biopelículas o las interacciones de 'especies clave', permiten que la microbiota se establezca y se estabilice (Ze y Mougén y cols. 2013). El análisis de coexistencia identificaba 35 candidatos que formaban vecinos de coexistencia de primer grado con inhibidores directos en un grado por encima de 95% (HMI\_2, HMI\_5, HMI\_6, HMI\_7, HMI\_8, HMI\_9, HMI\_10, HMI\_11, HMI\_12, HMI\_14, HMI\_15, HMI\_16, HMI\_17, HMI\_18, HMI\_19, HMI\_20, HMI\_26, HMI\_27, HMI\_31, HMI\_33, HMI\_34, HMI\_35, HMI\_37, HMI\_38, HMI\_39, HMI\_41, HMI\_42, HMI\_43, HMI\_44, HMI\_46, HMI\_47, HMI\_48, HMI\_50, HMI\_51, HMI\_52; véase la Tabla 1 para los detalles). Además, varios de los aislados bacterianos enumerados en la Tabla 1 se encuentran dentro de los mismos géneros que especies clave conocidas (HMI\_17, HMI\_23 a HMI\_32, HMI\_45, HMI\_49, HMI\_51 y HMI\_52; véase la Tabla 1 para los detalles) y se espera así que representen especies clave por sí mismos.

En segundo lugar, se muestra en el Ejemplo 1 que los aislados bacterianos enumerados en la Tabla 1 contribuyen a la diversidad global de la microbiota gastrointestinal, que es baja durante la disbiosis. Específicamente, un número de estas bacterias (HMI\_23 a HMI\_32 inclusive) se recuperó de la microbiota intestinal de donantes de FMT como parte de CIP2. Cuando la microbiota de un donante sano se transfería a un individuo con disbiosis debida a tratamiento antibiótico de infección recurrente por *C. difficile*, todos recuperaban la salud (Figura 6), lo que se determinaba como ausencia de *C. difficile* a los 2-3 meses después del FMT. Los criterios para identificar candidatos para bacterioterapia mediante el procedimiento CIP2 requerían que estuviera presente una cierta posible especie bacteriana en la microbiota de la mitad de todos los receptores en más de >0,6% de abundancia relativa promedio a los 2-3 meses después del FMT. Por otra parte, también se identificaron géneros que representan varias de las 51 bacterias enumeradas en la Tabla 1 en donantes sanos y en receptores curados después del FMT (Figura 14).

Por otra parte, el análisis informático presentado en el presente documento (Figuras 8 y 9) revelaba que los 51 posibles aislados para bacterioterapia son predominantes en individuos sanos, en los que se presentan en una abundancia relativa promedio >0,001% y estas bacterias tienden a agotarse bajo condiciones de disbiosis (Figura 9). Conjuntamente, estos datos sugieren con fuerza que los 51 aislados bacterianos enumerados en la Tabla 1 son adecuados en el tratamiento de la disbiosis gastrointestinal.

En tercer lugar, se espera que los aislados bacterianos enumerados en la Tabla 1 compitan con patógenos entéricos en el tracto gastrointestinal, y así encuentran aplicación en el tratamiento de disbiosis gastrointestinal.

- 5 Específicamente, la amplia presencia de estas bacterias en individuos sanos implica que colonizan eficazmente el tracto gastrointestinal. Cuando la microbiota está poblada por estas bacterias asociadas con la salud, se sabe que la probabilidad de infección entérica con cualquier bacteria patógena es baja, ya que estas infecciones habitualmente no se producen en individuos con una microbiota gastrointestinal sana. En efecto, después del FMT, durante el cual se identificaron géneros que representan muchas de las 51 bacterias enumeradas en la Tabla 1 en individuos tratados de una disbiosis del tracto gastrointestinal después de un tratamiento antibiótico de una infección por *C. difficile* (Figura 14), se restauraba un perfil de microbiota sana (Figura 6 y Figura 14) y la infección por *C. difficile* no volvía a presentarse en un plazo de 3 meses. Esto indica que estas bacterias promueven la salud según los principios de resistencia a la colonización, en los que los patógenos se excluyen o suprimen por competición con las bacterias asociadas con la salud residentes por nutrientes y sitios de ligazón (Britton & Young 2014; Lawley & Walker 2013).
- 10 En cuarto lugar, se espera que varios de los aislados bacterianos enumerados en la Tabla 1, basándose en la extrapolación a partir de investigaciones de otras especies de los mismos géneros o clados (Louis & Flint, 2009), produzcan metabolitos, tales como ácidos grasos de cadena corta, que tienen beneficios conocidos para la salud gastrointestinal (p. ej. HMI\_9, HMI\_12, HMI\_20, HMI\_21 y HMI\_23-HMI\_32; véase la Tabla 1 para los detalles).
- 15 Finalmente, se ha mostrado que algunas especies relacionadas con *Clostridium* son inmunomoduladoras y pueden ser beneficiosas para reducir la inflamación (Atarashi, Tanoue y cols. 2013). Basándose en una comparación de secuencias del gen de ARNs 16S usando 95% de identidad de secuencia como un corte para definir un género (Bosshard, Abels y cols. 2003), ejemplos en este contexto que son del mismo género que estas bacterias son HMI\_4, HMI\_9, HMI\_10, HMI\_15, HMI\_27, HMI\_28 y HMI\_38.

Tabla 1 – Características de los candidatos para bacterioterapia depositados

Sucesión del gen de ARNr 16S	Número de referencia del aislado bacteriano depositado	Especie bacteriana caracterizada más cercana según de aislamiento por análisis BLAST	Número de registro del Leibniz-Institut DSMZ (DSMZ) para el aislado bacteriano depositado	En la 'Lista de Mas Bacterias' de Human Microbiome Project	Abundancia promedio >0.101%	Abundancia promedio reducida en disbiosis gastrointestinales	Formador de esporas (aislado de una muestra tomada con diarrea)	Presencia después de FMT (riferos CIP2)	Se adhiere a criterios de selección CIP2	Inhibición de patógeno (C. difficile y/o E. coli)	Coexistencia con inhibidor	Producción de metabolitos beneficiosos (SCFA)	Especie clave	Actividad inmunomoduladora
1	HMI_1	<i>Clostridium thermoceleum</i>	DSM32191											
2	HMI_2	<i>Flavonifractor plautii</i>	DSM32147											
3	HMI_3	<i>Flavonifractor plautii</i>	DSM32149											
4	HMI_4	<i>Clostridium orbiscindens</i>	DSM32175											
5	HMI_5	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	DSM32153											
6	HMI_6	<i>Anaerotruncus colihominis</i>	DSM32152											
7	HMI_7	<i>Clostridium xylanolyticum</i>	DSM32158											
8	HMI_8	<i>Clostridium orditium</i>	DSM32192											
9	HMI_9	<i>Eubacterium confortum</i>	DSM32148											
10	HMI_10	<i>Clostridium orditium</i>	DSM32166											
11	HMI_11	<i>Lachnospira pectinoschiza</i>	DSM32151											
12	HMI_12	<i>Roseburia faecis</i>	DSM32150											
13	HMI_14	<i>Clostridium hathewayi</i>	DSM32193											
14	HMI_15	<i>Fusocatenaibacter saccharovorans</i>	DSM32162											
15	HMI_15	<i>Clostridium clostridioforme</i>	DSM32194											
16	HMI_17	<i>Ruminococcus torques</i>	DSM32163											
17	HMI_18	<i>Clostridium celerecrescens</i>	DSM32205											
18	HMI_19	<i>Clostridium celerecrescens</i>	DSM32195											
19	HMI_20	<i>Eubacterium infirmum</i>	DSM32164											
20	HMI_21	<i>Eubacterium infirmum</i>	DSM32177											
21	HMI_22	<i>Clostridium thermoceleum</i>	DSM32167											
22	HMI_23	<i>Anaerovorax odoriflutans</i>	DSM32165											
23	HMI_24	<i>Clostridium saccharogumia</i>	DSM32169											
24	HMI_25	<i>Clostridium saccharogumia</i>	DSM32168											
25	HMI_26	<i>Blautia luti</i>	DSM32178											
26	HMI_27	<i>Clostridium clostridioforme</i>	DSM32182											
27	HMI_28	<i>Blautia producía</i>	DSM32179											
28	HMI_29	<i>Blautia glucerasea</i>	DSM32180											

Secuencia del gen de ARN 16S	Número de referencia del aislado bacteriano depositado	Especie bacteriana caracterizada más cercana según da determinación por análisis BLAST	Número de registro del Letenia-Institut DSMZ (DSMZ) para el aislado bacteriano depositado	En la "Lista de Más Buscadas" de Human Microbiome Project	Abundancia promedio ±0.00%	Abundancia promedio relativa en discosis gastrointestinales	Formador de esporas (aislado de una muestra tratada con etanol)	Presenta después de FMT (criterio CIP2)	Se adhiere a criterios de selección CIP2	Inhibición de patógeno (c. difficile y/o E. coli)	Coexistencia con microflora	Producción de metabolitos beneficiosos (SCFAs)	Especie clave	Actividad inmunomoduladora
29	HMI_30	<i>Clostridium straminisolfers</i>	DSM32184											
30	HMI_31	<i>Butyrivibrio pullicaecorum</i>	DSM32181											
31	HMI_32	<i>Clostridium maritimum</i>	DSM32183											
32	HMI_33	<i>Eubacterium fissicatens</i>	DSM32282											
33	HMI_34	<i>Clostridium saccharolyticum</i>	DSM32211											
34	HMI_35	<i>Ruminococcus obeum</i>	DSM32219											
35	HMI_36	<i>Clostridium methylpentosum</i>	DSM32222											
36	HMI_37	<i>Clostridium xylandilybicum</i>	DSM32261											
37	HMI_38	<i>Oscillibacter valericigenes</i>	DSM32212											
38	HMI_39	<i>Ruminococcus obeum</i>	DSM32220											
39	HMI_40	<i>Megasphaera elsdenii</i>	DSM32213											
40	HMI_41	<i>Blautia luti</i>	DSM32226											
41	HMI_42	<i>Bacteroides coprocola</i>	DSM32215											
42	HMI_43	<i>Bacteroides plebius</i>	DSM32216											
43	HMI_44	<i>Roseburia inulinivorans</i>	DSM32217											
44	HMI_45	<i>Ruminococcus albus</i>	DSM32221											
45	HMI_46	<i>Elautia producta</i>	DSM32218											
46	HMI_47	<i>Clostridium nexile</i>	DSM32224											
47	HMI_48	<i>Butyrivibrio pullicaecorum</i>	DSM32214											
48	HMI_49	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	DSM32263											
49	HMI_50	<i>Flavonifractor plautii</i>	DSM32223											
50	HMI_51	<i>Ruminococcus bromii</i>	DSM32225											
51	HMI_52	<i>Ruminococcus albus</i>	DSM32265											

Relleno gris = Positivo/Sí; sin relleno = Negativo/No; barra = Sin datos disponibles /No probado

**Lista de secuencias**

5 Las secuencias del gen ARNs 16S de los 51 aislados bacterianos depositados listados en la Tabla 1 se indican posteriormente. Para cada candidato para bacterioterapia se da un posible género y nombre de especie. El género y los nombres de las especies se asignaron basándose en la base de datos de referencia de the Ribosomal Database Project (RDP) y al análisis por BLASTn según se explica en el Ejemplo 1. El género y los nombres de especie asignados a cada uno de los candidatos para bacterioterapia son así los de la bacteria conocida más estrechamente relacionada y de ahí que estén sometidos a cambio.

## ES 2 987 655 T7

### HMI 1 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium thermocellum (SEQ ID NO: 11)

CAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAACACATGCAAGTCGAACGAGAATCTTTGAACAGA  
TCTTTTCGGAGTGACGTTCAAAGAGGAAAGTGGCGGACGGGCGAGTAACGCGTGAGTAAC  
CTGCCCATAAAGAGGGGATAATCCATGGAAACGTGGACTAATACCGCATATTGTAGTCAA  
GTCGCATGACTAGATTATGAAAGATTTATCGCTTATGGATGGACTCGCGTCAGATTAGAT  
AGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGTCAACGATCTGTAGCCGAACTGAGAGGTTGATCG  
GCCGCATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTG  
CGCAATGGGGGCAACCCTGACGCAGCAACCGCGTGCAGGAAGAAGGTCTTCGGATTGT  
AAACTGTTGTGCGAAGGGAAGAAGACAGTGACGGTACCTTGTGAGAAAGTCACGGCTAAC  
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGACAAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGTGT  
AAAGGGCGCGTAGGCGGACTGTCAAGTCAGTCGTGAAATACCGGGGCTTAACCCCGGGG  
TGCGATTGAAACTGACAGCCTTGAGTATCGGAGAGGAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGG  
TGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGCGCTTCTGGACGACAACT  
GACGCTGAGGCGCGAAAGTGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACC  
GTAAACGATGGATACTAGGTGTAGGAGGTATCGACCCCTTCTGTGCCGAGTTAACACAA  
TAAGTATCCACCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG  
CCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGG  
TTGACATCCCTGGAATCGAGTAGAGATACTTGAGTGCCTTCGGGAATCAGGTGACAGGTG  
GTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCA  
ACCCCTATTGTGAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTGGCGAGACTGCCGGTGACAAA  
TCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGCCAGGGCTACACACG  
TACTACAATGGCCGATAACAAAGTGCAGCGAAACCGTGAGGTGGAGCGAATCACAAA  
CGGTCTCAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTTGGAATTGCTAGTAAT  
CGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACAC  
CATGAGAGTCGATAACACCCGAAGCCTGTGAGCTAACCTATTAGGAGGCAGCAGTCGAAG  
GTGGGGTTGATGATTGGGGTGAAGTCG

### 5 HMI 2 Secuencia de ADNr 16S de Flavonifractor plautii (SEQ ID NO: 2)

## ES 2 987 655 T7

GAGTGCTCATGACAGAGGATTTCGTCCAATGGAGTGAGTTACTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGTAAC  
CTGCCTTGGAGTGGGAATAACAGGTGGAAACATCTGCTAATACCGCATGATGCAGTTGGTTCGCATGGCTCTGA  
CTGCCAAAGATTTATCGCTCTGASATGGACTCGCGTCTGATTAGCTGGTTGGCGGGTAACGGCCACCAAGGCG  
ACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGGCCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCA  
GCAGTGGGGAATATTGGGCAATGGGCGCAAGCCTGACCCAGCAACGCCGCGTGAAGGAAGAAGGCTTTTCGGGTTG  
TAAACTTCTTTTCTCAGGGACGAAGCAAGTGACGGTACCTGAGGAATAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC  
CGCGTAATACGTAGGTGGCGAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAGGGCGGTGAGGCGGGACTGCAAGTCA  
GATGTGAAAACCATGGGCTCAACCTGTGGCCTGCATTTGAACTGTAGTTCTTGAGTACTGGAGAGGCAGACGGA  
ATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGTCTGCTGGACAGCAAC  
TGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGGATA  
CTAGGTGTGGGGGTCTGACCCCTCCGTGCCGAGTAAACACAATAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGATCGCA  
AGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTGGAAGCAACCGCAA  
GAACCTTACCAGGGCTTGACATCCCGGTGACCGGTGTAGAGATACACCTTCTTCTTGGGAAGCGCGGTGACAGG  
TGGTGCATGGTTGTCGTGAGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTA  
GTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGCGAGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAAGGTGGGACGACGTCAAATCATCA  
TGCCCTTATGTCCTGGGCCACACGTAATAAAGTGGTGGTCAACAGAGGGAAGCAAGACCGCGAGGTGGAGCA  
AACCCTAAAAGCCATCCCAGTTCGGATTGACGGCTGCAACTCCCTCTATCAACTTGAATCCGTACTAATCCG  
GGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTCGGGAACAC  
CCGAAGTCCGTAGCCTAACCGCAAGGGGGCGCGCCGAAGGTGGGTTGATAATTGGGGTGAAGTCGT

### HMI 3 Secuencia de ADNr 16S de *Flavonifractor plautii* (SEQ ID NO: 3)

TGGCTGTTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACCGGTGAGTAACCTGCCTTGGAGTGGGGAATAACACAGTAAAACT  
GTGCTAATACCGCATGACATATTGGTGTGCGATGGCACTGATATCAAAGATTTATCGCTCTGAGATGGACTCGCG  
TCTGATTAGATAGTTGGCGGGTAACGGCCACCAAGTCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGGCCGGCCA  
CATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGGCAATGGGCGCAAGCCTG  
ACCCAGCAACGCCGCGTGAAGGAAGAAGGCTTTTCGGGTTGTAAACTTCTTTAACAGGGACGAAGTAAGTGACGG  
TACCTGTTGAATAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAT  
TTACTGGGTGTAAGGGCGGTGAGGCGGGACTGCAAGTCAGATGTGAAAATATGGGCTCAACCCATAGCCTGCA  
TTTGAAACTGTAGTTCTTGAGTGTGCGAGAGGCAATCGGAATTCGCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATACG  
GAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGATGCTGGACGATAACTGACGCTGAGGCGGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAG  
GATTAGATACCCTGGTAGTCCACSCCTAAACGATGGATACTAGGTGTGGGGGTCTGACCCCTCCGTGCCGCA  
GCTAACGCAATAAGTATCCCACCTGGGAGTACGATCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCA  
CAAGCGGTGGAGTATGTGGTTAATTGGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGGCTTGACATCCTACTAACGAAC  
CAGAGATGGATTAGGTGCCCTTCGGGAAAAGTAGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGA  
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGCGAGACTGCCG  
TTGACAAAACGGAGGAAGGTGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCCTGGGCCACACGTAATAA  
ATGGCGGTTAACAGAGGGAGGCAAGCCGCGAGGCAGAGCAAACCCCTAAAAGCGTCCCAGTTCGGATTGCAGG  
  
CTGAAACCCGCTGTATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC  
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTCGGGAACACCCGAAGTCCGTAGCCTAACTGCAAAGGGGGCGCG  
5 GCCGAAGGTGGGTTGATAATTGGGGTGAAGTCGTAACAGGGTAACCG

### HMI 4 Secuencia de ADNr 16S de *Clostridium orbiscindens* (SEQ ID NO: 4)

## ES 2 987 655 T7

TGGCGGACGGGTGAGTAACCGGTGAGGAACCTGCCTCGGAGTGGGGAATAACAGACCGAAAGGCCTGCTAATACC  
GCATGATGCAGTTGGACCGCATGGTCTGACTGCCAAAGATTATCGCTCTGAGATGGCCTCGCGTCTGATTAGC  
TTGTTGGCGGGTAATGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGGCCGGCCACATTTGGACT  
GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTTGGCAATGGGCGCAAGCCTGACCCAGCAAC  
GCCGCGTGAAGGAAGAAGGCTTTTCGGTTGTAAACTTCTTTTCTCAGGGACGAACAAATGACGGTACCTGAGGAA  
TAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGT  
AAAGGGCGTGTAGCGGGGAAGGCAAGTCAGATGTGAAACTATGGGCTCAACCCATAGCCTGCATTTGAAACTGT  
TTTTCTTGAGTGCTGGAGAGGCAATCGGAATTCGGTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATACGGAGGAACACCA  
GTGGCGAAGGCGGATTGCTGGACAGTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACC  
CTGGTAGTCCACGCTGTAACGATGGATACTAGGTGTGGGGGTCTGACCCCTCCGTGCCGAGTTAACACAAT  
AAGTATCCCACCTGGGAGTACGATCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGA  
GTATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGGCTTGACATCCTACTAACGAAGCAGAGATGCAT  
TAGGTGCCCTTCGGGGAAGTAGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCTTATTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGCGAGACTGCCGTTGACAAAACG  
GAGGAAGGCGGGGACGACGCTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTGGGCTACACACGTACTACAATGGTGGTAAA  
CAGAGGAAGCAAGACCGGAGGTGGAGCAAATCCCTAAAAGCCATCCAGTTCGGATTGCAGGCTGAAACCCGC  
CTGTATGAAGTTGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC  
CGCCCGTCACACCATGAGAGTCGGGAACACCCGAAGTCCGTAGTCTAACCGCAAGGGGACGCGGCCGAAGGTGG  
GTTTCGATAATTGGGGTGAAGTCGTAACAGGGTAACC

### HMI 5 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus flavefaciens (SEQ ID NO: 5)

CGGATCAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGCAACCTGCCTTTAAGAGGGGGATAACGTTTGGAAACGAACG  
CTAATACCGCATAACATAGAGATTACATGTTTCTTCTATCAAAGATTATCGCTTAAAGATGGGCTCGCGTCT  
GATTAGCTAGTTGGTGGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACTGAGAGGTAGAACGGCCACAT  
TGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGAGGAAACTCTGATG  
CAGCGATGCCGCGTGAAGGAAGAAGGTTTTCGGATTGTAAACCTCTGTCTTCAGGGACGATAATGACGGTACCTG  
AGGAGGAAGCTCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGAGCGAGCGTTGTCCGGAACTACTG  
GGTGTAAAGGGAGCGTAGGCGGGATCTTAAGTCAGGTGTGAAAACCTATGGGCTCAACCCATAGACTGCACTTGAA  
ACTGAGGTTCTTGAGTGAAGTAGAGGCAGGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAA  
CATCAGTGGCGAAGGCGGCTGCTGGGCTTTTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG  
ATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAACGATGATTACTAGGTGTGGGGGACTGACCCCTTCCGTGCCGAGTTAAC  
ACAATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCA  
GTGGAGTATGTGGTTAATTCGAAGCACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTGTGACATCTACAGAACTCTTAGAGAT  
AAGGGAGTGCCTTCGGGGAAGTGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGT  
TAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCATTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAATGAGACTGCCGTTGACAAA  
ACGGAGGAAGGTGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCCGGGCTACACACGTACTACAATGGCGTA  
ACAGAGGAAGCAACATCGCGAGGTGAAGCAAATCTCTAAAAACGTCCAGTTGAGATTGCAGGCTGCAACTCG  
CCTGCATGAAGACGGAATTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACA  
CCGCCGTCACACCATGGGAGTCGGTAACACCCGAAGTCCGTTGTCTAA

### HMI 6 Secuencia de ADNr 16S de Anaerotruncus colihominis (SEQ ID NO: 6)

5

## ES 2 987 655 T7

AGTCGACGGACACATCCGACGGAATAGCTTGCTAGGAAGATGGATGTTGTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACG  
TGAGCAACCTACCTCAGAGTGGGGGACAACAGTTGAAACGACTGCTAATACCGCATAAGATGGCAGGGTCGCAT  
GGCCTGGTCATAAAAGGAGCAATTCCGCTCTGAGATGGGCTCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTC  
ACCAAGGCAACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTA  
CGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGAAGACGGTT  
TTCGGATTGTAACCTCTGTCTTGTGGGACGATAGTGACGGTACCACAGGAGGAAGCCATGGCTAACTACGTGCC  
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGATGGCGAGCGTTTCCGGAATTACTGGGTGTAAGGGAGTGTAGGCGGGCTGGT  
AAGTTGAATGTGAAACCTTCGGGCTCAACCCGGAGCGTGCGTTCAAACCTGCTGGTCTTGAGTGAAGTAGAGGCA  
GGCGGAATTCGCCGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATCGGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCCCTGCTGGGC  
TTTTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGA  
TGATTACTAGGTGTGGGGGATTGACCCCTCCGTGCCGGAGTTAACACAATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACG  
ACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAGCAGTGGAGTATGTGGTTAATTGAAAGCAA  
CGCGAAAAACCTTACCAGTCTTGACATCCATCGCCAGGCTAAGAGATTAGCTGTTCCCTCCGGGGACGATGAGA  
CAGGTGGTGCATGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTACT  
ATTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAATGGGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATC  
ATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTACTACAATGGCCGTTAACAGAGAGCAGCGATACCGCGAGGTGG  
AGCGAATCTAGAAAACGGTCTCAGTTCGGATTGCAGGCTGAAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAATTGCTAGTAA  
TCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGAGAGCCGGTA  
ACACCGAAGTCAAGTAGCCTAACCGCAAGGAGGGCGCTGCCGAAGGTGGGGCTGGTAATTGGGGTGAAGTCGTAA  
C

### HMI 7 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium xylanolyticum (SEQ ID NO: 7)

GTAACGCGTGGGTAACCTGCCTCATAACAGGGGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGCGCACAG  
GGTCGCATGACCTAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCCGCTCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAA  
CGGCTACCAAGCCAGCATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAA  
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTTGATGCAGCGACGCCCGGTGAAGGAAG  
AAGTATTTCCGGTATGTAACCTTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCGGCTAACTA  
CGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAGGGAGCGTAGGCGG  
TCTGACAAGTCAAGTGAAGGCCCGGGGCTCAACTCCGGGACTGCTTTTGAAACTGCCGGACTAGATTGCAGGA  
GAGGTAAGTGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTA  
5 CTGGACTGTAAATGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT  
AAACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCACAGCTCTTCGGTGCCGCAGCAAACGCAATAAGTATTCACCTGGGG  
AGTACGTTTCGAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTTCG  
AAGCAACCGGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCCGATGACCGTCCCGTAACGGGGGCTTCTCTTCGGAGCAT  
CGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC  
CTTATCTTTAGTAGCCAGCGGTACGGCCGGGCACTCTAGAGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGA  
TGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAAA  
CTGTGAAGTCTAGCAAATCTCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGG  
AATCGTAGTAATCGCAATCAGCATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTACACCA  
TGGGAGTTGAAACGCCCGAAGTCAAGTACCCAACCGTAAGGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGTCTGATAACTGGG  
GTGAAGTCGTAACAAGGTAACCG

### HMI 8 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium oroticum (SEQ ID NO: 8)

## ES 2 987 655 T7

TTTTGATTGATTTCTTCGGAAAGAGAGAGACTGTGACTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGC  
CTCATACAGGGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGCACACAGCTTCGCATGAAGCAGTGTGA  
AAAACCCGGTGGTATGAGATGGACCCCGCTCTGATTAGGTAGTTGGTGGGGTAACGGCCACCAAGCCGACGAT  
CAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGT  
GGGGAATATTGCACAATGGGGAAACCTGATGCAGCGACGCCGCTGAAGGATGAAGTATTTCCGGTATGTAAC  
TTCTATCAGCAGGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAA  
TACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTAATGCAAGTCTGGAGTGAA  
AACCCGGGGCTCAACCCGGGACTGCTTTGGAACTGTGTAAGTGTGCGGAGAGGCAAGTGAATTCCTAG  
TGTAGCCGGTAAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCCGGCTTGCTGGACGATGACTGACGTTG  
AGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGACTACTAGGTGT  
CGGTAAGCAAAGCTTATCGGTGCCGAGCAAACGCAATAAGTAGTCCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGAATGAA  
ACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA  
CCTGGTCTTGACATCCCTCTGACAGCTGAGTAATGTGGTTTTCTTTCCGGGACAGAGGAGACAGGTGGTGCATGG  
TTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTTCAGTAGCCAGCA  
TATGAGATGGGCACTCTGGAGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC  
CCTTATGATCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGCCTGCGAGGGGGAGCAAATCC  
CAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAAT  
CAGAATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCCGCCGTACACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGA  
AGTCAGTGACCCAACCTTTACAGGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGACCGATAACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI\_9 Secuencia de ADNr 16S de Eubacterium contortum (SEQ ID NO: 9)

CTTAAGTTTGATTTCTTCGGATGAAGACTTTTGTGACTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCC  
TCATACAGGTGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGACCACAGCACCGCATGGTGCAGGGGTAA  
AAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCCGCTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGACGATC  
AGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG  
GGGAATATTGCACAATGGGGAAACCTGATGCAGCGACGCCGCTGAAGGATGAAGTATTTCCGGTATGTAACCT  
5 TCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAAT  
ACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTATGGCAAGTCTGATGTGAAA  
GGCCAGGGCTCAACCTGGGACTGCATTGGAACTGTGCAACTAGAGTGTGCGGAGAGGCAAGTGAATTCCTAGT  
GTAGCCGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTGCTGGACGATGACTGACGTTGA  
GGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGACTACTAGGTGTC  
GGGTAGCAGAGCTATTCGGTGCCGAGCAACGCAATAAGTAGTCCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGAATGAAA  
CTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTAC  
CTGCTCTTGACATCTCCCTGACCGCAAGTAATGTTGCCTTTCTTTCCGGGACAGGGATGACAGGTGGTGCATGGT  
TGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGGCAACCCCTATCTTTAGTAGCCAGCGG  
TTTGGCCGGGCACTCTAGAGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCC  
CCTTATGAGCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGCCTGCGAGGGTAAGCAAATCTC  
AAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATC  
AGAATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCCGCCGTACACCATGGGAGTTGGTAACGCCCGAA  
GTCAGTGACCCAACCGCAAGGAGGGAGCTGCCGAAGGTGGGACCGATAACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAAC  
CG

### HMI\_10 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium oroticum (SEQ ID NO: 10)

## ES 2 987 655 T7

ACATGCAAGTCGAGCGAGCGCTTTAGTGGAAATCTACGGAAGGAAAGTGAAGTACTGAGCGGCGGACGGGTGAG  
TAACGCGTGGGTAACTGCCTCATAACAGGGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGACCCAGT  
ACCGCATGGTACAGAGGTAAAACTGAGGTGGTATGAGATGGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGAAGTAGA  
GCCTCACCAAGCCGACCATCACTAGCCACCTGAGAGGCTGACCCGCCACATTCCGACTCAGACACCGCCAAAAC  
TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTCACAAATGGGGGAAACCCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGA  
AGTATTTCCGGTATGTAAGCTCTATCAGCAGGGGAAAGAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCACCGGCTAAATAC  
GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTATGGTGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAGGGAGCGTAGACGGA  
GCAGCAAGTCTGATGTGAAAACCCGGGGCTCAACCCGGGAGTGCATTGGAACTGTTGATCTAGAGTGCTGGAG  
AGGTAAGTGGAAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTAC  
TGGACAGTACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTA  
AACGATGACTACTAGGTGTCGGGTAGCAAAGCTATTCGGTCCCGCAGCCAACGCAATAAGTAGTCCACCTGGGGA  
GTACGTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGA  
AGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGCCCTTGACATCCGGGTGACCGGCGAGTAATGTCGCCTTCTCTTCGGAGCAGC  
CGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC  
TTATCTTTAGTAGCCAGCGGATAAGCCGGGGACTCTAGAGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGAT  
GACGTCAAATCATCATGCCCTTATGGGCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAAGC  
TGTGAAGCGGAGCGAATCTCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGA  
ATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTACACCAT  
GGGAGTCAAGTAAACCCGAAGTCAAGTACCCCAACCGTAAGGAGGGAGCTGCCGAAGGCGGGACGGATAACTGGGG  
TGAAGTCGTAACAAGGTAACCG

### HMI 11 Secuencia de ADNr 16S de *Lachnospira pectinoschiza* (SEQ ID NO: 11)

AGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCCTGTACAGGGGACAACAGCTGGAAACGGCTGCTAATA  
CCGCATAAGCCCTTAGCACTGCATGGTGCATAGGGAAAAGGAGCAATCCGGTACAGGATGGACCCGCGTCTGATT  
AGCCAGTTGGCAGGGTAACGGCTACCAAAGCGACGATCAGTAGCCGATCTGAGAGGATGTACGGCCACATTGGG  
ACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTCACAAATGGAGGAAACTCTGATGCAGC  
GACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTATTTCCGGTATGTAAGCTCTATCAGCAGGGGAAAGAAAATGACGGTACCTGACTA  
AGAAGCACCGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTATGGTGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTG  
TAAAGGGAGCGTAGGTGGCAAGGCAAGCAGAAGTAAAACCCGGGGCTCAACCGCGGGATTGCTTTTGGAACTG  
TCATGCTAGAGTGCAGGAGGGGTGAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACC  
GGAGGCGAAGGCGGCTCACTGGACTGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATAC  
CCTGGTAGTCCACGCGGTAACGATGAATACTAGATGTCCGGTAGCAAAGCTACTCCGGTGTCTGCGAAAACGCAA  
TAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGG  
AGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGCTCTTGACATCCCATTTCGATAGAGGGTAATGCT  
TCTAGCCCTTCGGGGGAATGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGT  
CCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATTGTAGTAGCCAGCAGGTGAAGCTGGGCACTCTGATGAGACTGCCGGGGATA  
ACCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAGCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCG  
TAAACAGAGGGAAGCGAAGGAGTGTCTGGAGCAAATCTCAAAAATAACGTCTCAGTTCCGGATTGTAGTCTGCAA  
CTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTGA  
CACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGTAATGCCCGAAGTCAAGTACTCAACCGAAAGGAAAAGCTGCCGAA  
GGCAGGACTGGTAACTGGGGTGAAGTCCT

5

### HMI 12 Secuencia de ADNr 16S de *Roseburia faecis* (SEQ ID NO: 12)

## ES 2 987 655 T7

AGTCGAACGAAGCACTTTATTACGATTTCTTCGGAATGACGATTTAGTGACTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACG  
CGTGGGTAACCTGCCTTATACAGGGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGGATTGC  
ATGATCTGGTGTGAAAACTCCGGTGGTATAAGATGGACCCGCGTCTGATTAGCTGGTTGGTGAGGTAACGGCCC  
ACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTA  
CGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGCGAAGAAGTAT  
TTCGGTATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGGAAAGAAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGT  
GCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGCAGCGCGTGC  
GGCAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGGCTCAACCCCGGGACTGCATTGGAACTGTCGTAATTGAGTATCGGAGAG  
GTAAGTGGAAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTG  
GACGATAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAA  
CGATGAATACTAGTGTGGGGGACATAGTCCCTCGGTGCCGACGAAACGCAATAAGTATTCACCTGGGGAGT  
ACGTTTCGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAG  
CAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCCGGTGACAAAGTATGTAATGTACTCTTTCTTCGGAACACCGG  
TGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCT  
GTTCTTAGTAGCCAGCGGTTCCGGCCGGCCTCTAGGGAGACTGCCAGGATAACCTGGAGGAAGCGGGGATGA  
CGTCAAATCATCATGCCCTTATGACTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAAAAGG  
TGACTTCTAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGTTCGGACTGTAGTCTGCAACTCGACTACACGAAGCTGGAAT  
CGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGTCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGG  
GAGTCGGGAATGCCCGAAGCCGTTGACTCAACCGAAAGGAGAGGCCGTCGAAGGCAGGTCTGATAACTGGGGTG  
AAGTCGTAACAAGGTAACC

### HMI 14 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium hathewayi (SEQ ID NO: 13)

AGTCGACGGAGATGCGATGTGAGCGAGAGGTGCTTGCCTGATCAATCTTTTCGTATCTTAGTGGCGGACGGGTG  
AGTAACGCGTGGGTAACCTGCCTTATACCGGGGATAACACTTAGAAATAGGTGCTAATACCGCATAAGCGCACG  
GTGTCGCATGACACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTATAAGATGGACCCGCGTCTGATTAGCCAGTTGGCAGGGTA  
ACGGCCTACCAAAGCGACGATCAGTAGCCGCGCTGAGAGGGTGAAACGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAA  
ACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCTTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGTGAA  
GAAGTATTTTCGGTATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGGAAAGAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAA  
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGA  
CGGTGAAGCAAGTCTGAAGTGAAAGTTGGGGCTCAACCCGAAACTGCTTTGGAACTGTTTAACTGGAGTACA  
GGAGAGGTAAAGTGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATAATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGGC  
TTACTGGACTGTAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCCTGGTAGTCCACGC  
CGTAAACGATGATTACTAGGTGTTGGTGGATATGGATCCATCGGTGCCGACGAAACGCAATAAGTAATCCACCT  
GGGGAGTACGTTTCGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA  
TTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTGATCTTGACATCCCTATGAATACAGGGTAATGCCTGTAGTACTTCGGT  
ACATAGGAGACAGGTGGTGCATGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC  
AACCCTATCTTTAGTAGCCAGCAGTAAGATGGGCACTCTAGAGAGACTGCCGGGATAACCCGAGGAAGGTGG  
GGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAGAGGGGAAGCG  
AAGTGGTGACATGGAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGC  
TGGAAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGTCTTGTACACACCGCCCGTACACA  
CCATGGGAGTAGTAATGCCCGAAGTGGTGGTACCTAACCGCAAGGAAGGAGCCGCCGAAGGCAGGACTTATAACT  
GGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGT

5

### HMI 15 Secuencia de ADNr 16S de Fusicatenibacter saccharivorans (SEQ ID NO: 14)

## ES 2 987 655 T7

CGGATGGAATCGGTATAACTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAAACCTGCCCTGTACCGGGGATAAC  
ACTTAGAAATAGGTGCTAATACCGCATAAGCGCACGGAACCTGCATGGTTCTGTGTGAAAACTCCGGTGGTACAG  
GATGGTCCCCTGCTGATTAGCCAGTTGGCAGGGTAACGGCCTACCAAAGCGACGATCAGTAGCCGGCCTGAGAG  
GGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG  
GGGAAACCCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGTGAAGAAGTATTTCCGGTATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGAAGA  
AAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGT  
TATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCATGGCAAGCCAGATGTGAAAACCCAGGGCTCAACCTT  
GGGATTCGATTTGGAACCTGCCAGGCTGGAGTGCAGGAGAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGT  
AGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGCGCTTACTGGACTGTAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGG  
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGGGTAACGATGATTGCTAGGTGTAGGTGGGTATGGACCCAT  
CGGTGCCGACGCTAACGCAATAAGCAATCCACCTGGGGAGTACGTTCCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATGACG  
GGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCC  
AATGACGCACCTGTAAAGAGGTGTCCCTTCGGGGCATTGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGT  
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTTATCTTAGTAGCCAGCAGGTGAAGCTGGGCACTC  
TAAGGAGACTGCCGGGATAACCCGGAGGAAGCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCT  
ACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAGGGAAGCGAGACAGTGTGTGGAGCAAATCCCAGAAATAACGTCTCA  
GTTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTCCGGGTGA  
ATACGTTCCCGGTCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTTGGAAATGCCCGAAGTCTGTGACCTAAC  
GAAAGGGAGGAGCAGCCGAAGGCAGGTCTGATAACTGGGGTGAAGTCGTA

### HMI 16 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium clostridioforme (SEQ ID NO: 15)

5

CTGCTTTGATGAAGTTTTTCGGATGGATTTAAAACAGCTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGC  
CTCACACTGGGGGATAACAGTTAGAAATAGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACGGTTCGCGATGGAACAGTGTGA  
AAAACCTCCGGTGGTGTGAGATGGACCCCGCTCTGATTAGCCAGTTGGCGGGGTAACGGCCACCAAAGCGACGAT  
CAGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGT  
GGGGAATATTGCACAATGGGGAAACCCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGTGAAGAAGTATTTCCGGTATGTAAG  
CTCTATCAGCAGGGAAGAAAGTGACGGTACCTGAATAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA  
TACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCAAGGCAAGTCTGAAGTGA  
AGCCCGGTGCTTAAACGCCGGGACTGCTTTGAAACTGTTTAGCTGGAGTGCCGGAGAGGTAAGCGGAATTCCTAG  
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGTAACTGACGTTG  
AGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGATGATTGCTAGGTGT  
AGGTGGGTATGGACCCATCGGTGCCGACGTAACGCAATAAGCAATCCACCTGGGAGTACGTTCCGCAAGAATGA  
AACTCAAAGGAATGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTT  
ACCAGGTCTTGACATCCCAGTGAALAAACCCGTAACGGGTTCCCTCTTCGGAGCATCGGAGACAGGTGGTGCATG  
GTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCCTTATCTTAGTAGCCAGC  
AGGTAAGGCTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGGATAACCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATG  
CCCCTTATGATCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAACAAAGGGAAGCGAGCCTGCGAGGGTGAGCAAATC  
CCAAAATAACGTCCAGTTCGGACTGTAGTCTGCAACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAA  
TCAGAATGTCCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTCCGAAATGCCCG  
AAGTCTGTGACTCAACCGAAGGAGAGCAGCCGAAGGCAGGTCTGATAACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI 17 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus torques (SEQ ID NO: 16)

## ES 2 987 655 T7

CGGTATGAGATGGACCCGCTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCG  
ACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAA  
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCGAC  
GCCGCGTGAGCGAAGAAGTATTTCCGGTATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGAC  
GGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGG  
GCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCGAGGCAAGTCTGAT  
GTGAAAACCCGGGGCTCAACCCCGTACTGCATTGGAACTGTTTTGCTTGAGTGCCGGA  
GAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGT  
GGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGAGCAAAC  
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTCGGGGAGCAA  
AGCTCTTCGGTGCCGCCGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGA  
ATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCC  
AAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAGCCTTGACATCCCATGACAGAGCATGTAATGTGCT  
TTCCCTTCGGGGCAGTGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGAT  
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCTCAGTAGCCAGCGGTTTGGCCGG  
GCACTCTGGAGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATC  
ATGCCCTTATGGCTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAGC  
CTGCGAGGGGGAGCAAATCCCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCG  
ACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCC  
CGGGTCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTCGGCAACGCCCGAAGCCAGTGAC  
CCAACCGAAAG

### HMI 18 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium celerecrescens (SEQ ID NO: 17)

5

AGTCGACGAGGTAATGAGATGAAGTTTTCCGGATGGATTCTTATTTCCGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGG  
GTAACCTGCCTCATACAGGGGATAACGATTGGAACGATTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTACCACATGGT  
ACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCTCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCCACCAA  
GGCAACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGA  
GGCAGCAGTGGGGGATATTGCACAATGGAGGAACTCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGTGAAGAAGTATTTCCG  
TATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAG  
CCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCGATGCAAGTC  
TGAAGTGAAATACCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCTTTGGAACTGTATGGCTAGAGTGTGGAGAGGTAAGCGG  
AATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAAGAACCAGTGGCGAAGCGGCTTACTGGACAGTAA  
CTGACGTTCAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAAT  
ACTAGGTGTCCGGGGACAAAGTCTTTCCGGTCCCGCCGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTCCG  
AAGAATGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGA  
AGAACCTTACCAAATCTTGACATCCCTCTGAAAAGCCTTTAATCGAGCTCCTCCTTCGGGACAGAGGTGACAGGT  
GGTGCATGGTTGTCGTGAGTGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTGTCAG  
TAGCCAGCAGGTAAAGCTGGGCACTCTGATGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA  
TCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGAGAGGCGAAGCTGTGAGGCA  
GAGCAAATCTCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGT  
AATCGCGGATCAGAATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTCGG  
AAATGCCCGAAGCCAGTGACCCAAGCGAAAGCAGGGAGCTGTGGAAGCAGGTCTGATAACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI 19 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium celerecrescens (SEQ ID NO: 18)

## ES 2 987 655 T7

TCGACGAGGTATTTTGGATTGAAGTTTTTCGGATGGATTTTCAGATACCGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACCGGTGGG  
TAACCTGCCTCATACAGGGGGATAACGGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTACCGCATGGTA  
CGGTGTGAAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCCCACCAAG  
GCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGACCGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAG  
GCAGCAGTGGGGGATATTGCACAATGGAGGAACTCTGATGCAGCGACCCGCGTGGTGAAGAAGTATTTCCGGT  
ATGTAAAGCTCTATCAGCAGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGC  
CGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCGACGCAAGTCT  
GAAGTAAAATACCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCTTTGAAAAGTGTGTGCTAGAGTGCTGGAGAGGTAAGCGGA  
ATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTTAGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACAGTAA  
TGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATA  
CTAGGTGTTGGTGAGCAAAGCTCATCGGTGCCGCCCAAACGCAATAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTCCGA  
AGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACCGGAA  
GAACCTTACCAAATCTTGACATCCCTCTGAAACGCCCTTAATCGGGCTCCTCCTTCGGGACAGAGGTGACAGGTG  
GTGCATGGTTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTTGTCAGT  
AGCCAGCAGGTAAGCTGGGCACTCTGATGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAT  
CATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACAGTGTCTACAATGGCGTAAACAAAGAGAAGCGAGCCTGCGAGGGGG  
AGCAAATCTCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTA  
ATCGCAGATCAGAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCGCCGTCACACCATGGGAGTCCGA  
AATGCCCCAAGCCAGTGACCCAAGCGAAAGCAGGGAGCTGTGGAAGGCAGGTCTGATAACTGGGGTGAAGTCGTA  
ACAGGTAACCG

### 5 HMI 20 Secuencia de ADNr 16S de Eubacterium infirmum (SEQ ID NO: 19)

GAGCTCATCACAGATGCTTCGGTTGAAGTGATGAGTGGAAAGCGGCGGACGGGTGAGTAA  
CGCGTAGGCAACCTGCCCTTTGCAGAGGGATAGCCTCGGGAAACCGGATTAAAACCTCA  
TGACACCTCTTAAAGACATCTTTGAGAGGTCAAAGATTTATCGGCAGAGGATGGCCTGC  
GTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACCTG  
AGAGGGTGATCGCCACATTTGAACTGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAG  
TGGGGAAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAAGGAAGAAG  
CCTTTGGGTGTAAGTCTGTTCTAAGGGAAGATAATGACGGTACCTTAGGAGCAAGTC  
CCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGAATT  
ATTGGGCGTAAAGAGTACGTAGGTGGTTACCTAAGCAGGAGGTATAAGGCAATGGCTTAA  
CCATTGTTGCCTTGTGAAGTGGGCTACTTGAGTGCAGGAGAGGAAAGCGGAATTCCTAG  
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTCTGGA  
CTGTAAGTACACTGAGGTACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG  
TCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGGTGTGGGGTGCAGACTTCCGGTGCCGAGTTA  
ACGCAATAAGTCTCCGCTGGGGAGTACGTTGCAAGAATGAACTCAAAGGAATTGAC  
GGGGACCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGGAAGAACCTTAC  
CAGGACTTGACATCCCTCTGACAGCCTTTAATCGAGTTTTCTACGGACAGAGGAGACA  
GGTGGTGCATGTTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG  
CGCAACCTTGTCAATAGTTGCCAGCAGTAAGATGGGCACTCTAGTGAAGTACCAGGGA  
TAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTTCTGGGCTACA  
CACGTGTACAATGGCCGGTACAGAGAGAAAGCGAGACTGCGAAGTGGAGCGAAACTCAA  
AAGCCGGTCCCAGTTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCCGAGTTGCTAG  
TAATCGCAGATCAGAATGCTGCGGTGAATGCGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCGCCGTC

## ES 2 987 655 T7

ACACCATGGAAGTTGGGGCGCCCGAAGTTGGCAGATAAATATGTTACCTAAGGCGAAAT  
CAATGACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI\_21 Secuencia de ADNr 16S de Eubacterium infirmum (SEQ ID NO: 20)

TCGGTAAAGGGATATGGCGGAAAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTAGGCCAACCTGCC  
CTTACAGAGGGATAGCCATTGGAAACGATGATTAAGACCTCATAACGCCTCCCTCCCACA  
TGAGGGGGAGGCCAAAGATTCATCGGTAAGGGATGGCCCTGCGTCTGATTAGCTTGTGG  
CGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACA  
TTGGAACGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCGAGTGGGGAATATTGCACAAT  
GGGCGGAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAGGGATGAAGGCCTTCGGGTCGTAAACCT  
CTGTCTTGGGGAAGAAACAATGACGGTACCCATGGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTG  
CCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCGAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAG  
TGGGTAGGTGGTTACCTAAGCGCAGGGTCTAAGGCAATGGCTCAACCATTGTTCCGCCCTG  
CGAAGTGGGCTACTTGAGTGCAGGAGAGAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATG  
CGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTCTGGACTGTTACTGACACTG  
AGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG  
ATGAGCACTAGGTGTCGGGGCCGAAGGCTTCGGTGCCGCGAGTTAACGCATTAAGTGCTC  
CGCCTGGGGAGTACGCACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAG  
CAGCGGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGACTTGACATCC  
CCCTGACAGATCCTAACCGGATCCTTCTTCGGACAGGGGAGACAGGTGGTGCATGGTTG  
TCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTGCCAT  
TAGTTGCCATCATTGAGTTGGGACTCTAATGGGACTGCCGGGACAACCTCGGAGGAAGG  
TGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTTCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG  
CCGGTACAGCAGGAAGCGATCCCGCGAGGGGGAGCAAATCCCAAAAACCGGTCCCAGTTC  
GGACTGCAGGCTGCAACCCGCTGCACGAAGCCGGAGTTGCTAGTAATCGTGGATCAGAA  
TGCCACGGTGAATGCGTTCGCCGGTCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGAAGTTGG  
GGGTGCCGAAGCCGGCAGGGAGATATGCTGTCTAAGGCAAACCAAT

### 5 HMI\_22 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium thermocellum (SEQ ID NO: 21)

GGATGAGGAAATGCTTCGGCATGGAGACATCCGATCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGC  
GTGAGCAACCTGTCTGCACAGGGGATAACACTGAGAAATCAGTGCTAATACCGCATGA  
GACCACAGTATCACATGGTACAGGGGTCAAAGGAGAAATCCGGTGCAGGTTGGGCTCGCG  
TCCCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAAGGCTACCAAGGCGACGATGGGTAGCCGGACTGA  
GAGGTTGGCCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGT  
GGGGAATATTGGGCAATGGGCGAAAGCCTGACCCAGCAACGCCGCTGAAGGAAGAAGGT  
CTTTGGATTGTAACCTTTTGTCTATGGGAAGAAGGAAGTGACGGTACCATGGGAGGAAG  
CCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAGCGTTGTCCGAA  
TTACTGGGCGTAAAGGCGCGCAGCGGCCGATCAAGTTAGATGTGAAATACCCGGGCTT  
AACCTGGGAACTGCATTTAAACTGGTTGGCTAGGAGTGCAGGAGAGGGAAGCGGAATTC

## ES 2 987 655 T7

CTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTC  
TGGACTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTG  
GTAGTCCACGCTGTAAACGATGAATACTAGGTGTAGGGGTATCGACCCCCCTGTGCCG  
GAGCAAACGCAATAAGTATTCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGA  
ATTGACGGGGGCCCGCACAGCAGCGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAA  
CCTTACCAGGTCTTGACATCCCTCGAAGTGCATAGAGATATGTACGTCCTTCGGGACGAG  
GAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC  
AACGAGCGCAACCCCTACAGTTAGTTACCAGCGGGTAAAGCCGGGGACTCTAACAGGACT  
GCCGTGGATAACACGGAGGAAGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCTCCTTATGACCT  
GGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAAAGAGAAGCGAGACCCTAAGGTGGAGCGG  
ATCTCAAAAACCGGTCCCAGTTCGGATTGTGGGCTGCAACCCGCCACATGAAGTTGGA  
GTTGCTAGTAATCGGAATCAGCATGTCGCGGTGAATGCGTTCCCGGGCCTTGTACACAC  
CGCCCGTCACACCATGGGAGTTGGGAGCGCCCGAAGTCGTTGAGGTAACCCGCAAGGGAG  
CCAGGCGCCGAAGGTGAGACCGATAACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI 23 Secuencia de ADNr 16S de Anaerovorax odorimutans (SEQ ID NO: 22)

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCTGCCTAACACATGCAAGTCGAGC  
GGGAAATCTTGAACGATACTTCGGTAAAGGGAAGAGATGGATAGCGGCGGACGGGTGAG  
TAACGCGTAGGTAACCTGCCTCATGAGAGGGATAGCCTCGGGAAACTGGGATTAATACC  
TCATAATGCGGAGGAGTCACATGGCTCCATCGCCAAAGATTTATCGGCATGAGATGGACC  
TGGCTCTGATTAGTTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAGCGATCAGTAGCCGAC  
CTGAGAGGGTAATCGGCCACATTTGGAACGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCAG  
CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCTGAGCGATGA  
AGGCTCTCGGATCGTAAAGCTCTGTCTAGGGGAAGAATATATGACGGTACCCTTGGAGG  
AAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCGAGCGTTATCCG  
GAATTATTTGGGCGTAAAGAGTTTCGTAGGTGGTTTTGTAAAGCGCGGGTTTTAAGGCAACGG  
CTCAACCGTTGTTTCGCTTGCCTGCAAGACTTGAGTGCGGGAGAGGAAAGTGAATT  
CCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTT  
CTGGACCCTAACTGACACTGAGGAACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT  
GGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGCACTAGGTGTCGGGGCCGCAAGGTTTCGGTGCCGC  
AGTTAACGCATTAAGTGTCCGCTGGGGAGTACGCACGCAAGTGTGAAACTCAAAGGAA  
TTGACGGGGACCCGCACAAGCAGCGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAAC  
CTTACCAGGGCTTGACATCCCGATGACCGGCGGGTAACGCCGCTTCTCTTCGGAGCATC  
GGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG  
CAACGAGCGCAACCCCTTGTCAFTAGTTGCCAGCAGTTCGGCTGGGCACTCTAGTGAGACT  
GCCGGGGACAACCTCGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTTCT  
GGGCTACACACGTGCTACAATGGCCGGTACAGAGAGACGCAAGACTGTGAAGTGGAGCAA  
AACTCTAAAACCGTCCCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAG  
TTGCTAGTAATCGGAATCAGAATGTCGCGGTGAATGCGTTCCCGGGTCTTGTACACACC  
GCCCGTCACACCATGGAAGTTGGGGCGCCCGAAGTTGGTCAACAAATCGATTACCTAAG  
5 GCGAAACCAATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGG  
ATCACCT

### HMI 24 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium saccharoquimia (SEQ ID NO: 23)

AGCCACCGGCTTCGGGTGTTATCAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCC  
 GAGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCATCTTCATGCAG  
 GCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGAACGGGTTTTTGAGTTTCGCTCCAAGTCGCC  
 TCTTCGCTTCCCTTTGATCCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCA  
 TGATGATTTGACGTATCCCCGCTTCCCTCCGGCTTGTACCGGCTGTCTCGTTAGAGTC  
 CCCATCTTACTGCTGGTAACTAACGACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAAC  
 ATCTCAGCACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCTTGAGTATATCTATCCCTC  
 TATCTTAGAGTCTTACTCTGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAA  
 TTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCCCTTTGAGTTTCATTCTT  
 GCGAACGTACTACTCAGGCGGAGTACTTATTGCGTTAACTGCAGCACTGAGGCTTGTCCC  
 CCCAACACTTAGTACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACTAGGGTATCTAATCCTATTTGC  
 TCCCCACGCTTTCGGGACTGAGCGTCAGTTACAGACCAGATCGTCGCCTTCGCCACTGGT  
 GTTCCCTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCACCGATCCTCTTCTGC  
 ACTCTAGCTATTTGGTTTCCATGGCTTACTGAAGTTAAGCTTCAGCCTTTTACCACAGAC  
 CTCCATTTGCCGCTGCTCCCTCTTTACGCCAATAAATTCGGATAACGCTTGCCACCTAC  
 GTATTACCGCGGCTGCTGGCAGTAGTTAGCCGTGGCTTCTCACAAGTACCGTCACTC  
 TAATACCATTCCCTGTATTAGTCGTTCTTCTCTTATAACAGAAGTTTACAACCCGAAGGC  
 CTTCTTCTTACGCGCGCTTGTCTCGGTGAGGGTCCCCCATTGCCGAAAATTCCCTAC  
 TGCTGCCCTCCGTTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCAGTGTGGCCGTTACCCTCTC  
 AGGCCGGCTATGCATCGTCGCTTGGTAGGCCGTTACCCCTCCAACTAGCTAATGCACCA  
 TAAGCCCATCTGTTCCCTATCCCTTAGGATATTTAACTTAGAGAAAATGCTTCTCTAAG  
 CCTATGCGGTGTTAGCGCATGTTCCACCGGTTATCCCCCTGGTACAGCCAGGTTGCTTA  
 TGTCTTACTCACCCGTTCCGCACTCATCACC GAAGTATGCGTTGACTTGCATGTAT

**HMI\_25 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium saccharoquimia (SEQ ID NO: 24)**

GGCATCTACAGGGGATAACTGATGAAACGTCAGCTAAGACCGCATAGGTGTAGAGATC  
 GCATGAACTCTATATGAAAAGTGCTACGGGACTGGTAGATGATGGACTTATGGCGCATTA  
 GCTTGTGGTAGGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGA  
 CCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATT  
 TTCGGCAATGGGGGAAACCTGACCGAGCAACGCCGCTGAAGGAAGAAGTAATTCGTTA  
 TGTAACCTTCTGTATAGAGGAAGAACGGTGGATATAGGGAATGATATCCAAGTGACGGT  
 ACTCTATAAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCG  
 AGCGTTATCCGGAATTATTGGCGTAAAGAGGGAGCAGGCGGCACTAAGGGTCTGTGGTG  
 AAAGATCGAAGCTTAACTTCGGTAAGCCATGGAACCGTAGAGCTAGAGTGTGTGAGAGG  
 ATCGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGCCG

5

## ES 2 987 655 T7

AAGGCGACGATCTGGCGCATAACTGACGCTCAGTCCCGAAAGCGTGGGGAGCAAATAGGA  
TTAGATACCCTAGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTACTAAGTGTGGGTGTCAAAGCT  
CAGTGCTGCAGTTAACGCAATAAGTACTCCGCCTGAGTAGTACGTTGCAAGAATGAAAC  
TCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAAC  
GCCAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCGATCTAAAGGCTCCAGAGATGGAGAGATAGCT  
ATAGAGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAG  
TCCCGCCAACGAGCGCAACCCCTGTTGCCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGGACTCTGGCGA  
GACTGCCGGTGACAAGCCGGAGGAAGCCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG  
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAGCAGAGGGAAGCGAAGCCGCGAGGTGGA  
GCCAAACCCATAAACTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGAAGA  
TGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGCATGTGCGGGTGAATACGTTCTCGGGCCTTGTA  
ACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTCGGTAACACCCGAAGCCGGTGGCCTAACCGCAAGG  
AAGGAGCTGTCTAAGTGGGACTGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGGTAACC

### HMI 26 Secuencia de ADNr 16S de *Blautia luti* (SEQ ID NO: 25)

CGGGAATACTTTATTGAACTTCGGTGGATTTAATTTATTTCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACCGTGGGTAAC  
CTGCCTTATACTGGGGATAACAGCCAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGAACCGCATGGTTCCGT  
GTGAAAACTCCGGTGGTATAAGATGGACCCGCGTTGGATTAGCTAGTTGGCAGGGCAGCGGCCTACCAAGGCGA  
CGATCCATAGCCGGCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAG  
CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGAAACCCGTATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGT  
AAACTTCTATCAGCAGGGAAGATAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG  
GTAATACGTAGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCGCAGCAAGTCTGATG  
TGAAAGGCAGGGGCTTAACCCCTGGACTGCATTGAAACTGCTGTGCTTGAGTCCCGGAGGGGTAAGCCGAATTC  
CTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGCGGGCTTACTGGACGGTAACTGAC  
GTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAG  
GTGTGAGGGAGCACAGCTCTTTGGTCCCGCCGAAACGCATTAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGAA  
TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGSAACCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAAC  
CTTACCAAATCTTGACATCCCTCTGACCGGGACTTAACCGTCCCTTTCTTCGGGACAGGGGAGACAGGTGGTGC  
ATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCTTAGTAGCC  
AGCACGTAATGGTGGGCACCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGCGGGGATGACGTCAAATCATC  
ATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAACCCGCGAGGGTGGGCA  
AATCTCAAAAATAACGTCCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCG  
CGGATCAGAATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGTCTTGACACACCCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACG  
CCCCAAGTCAG

5

### HMI 27 Secuencia de ADNr 16S de *Clostridium clostridioforme* (SEQ ID NO: 26)

TTGCGGTAGGTCACAGGCTTCGGGCATTTCCAACCTCCCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTA  
CAAGACCCGGGAACGTATTACCCGCGACATGCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCAGCT  
TCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACGASACGTTATTTCTGGGATTTGCTCA

10

## ES 2 987 655 T7

ACATCACTGTCTCGCTTCCCTTTGTTTACGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAATCAT  
AAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCGCCCTTCCTCCGGGTATCCCCGGCAGTCTCC  
CTAGAGTGCCCAGCTCTACCTGCTGGCTACTAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGAC  
TTAACCCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCTCCAATGCT  
CCGAAGAGAATGCCCCGTACGGACACGTCATTGGGATGTCAAGACTTGGTAAGGTTCTT  
CGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCGAATTCCTT  
TGAGTTTCATTCTTGCGAACGTACTCCCCAGGTGGATTGCTTATTGCGTTAGCTGCGGCA  
CCGATGGGTCCATACCCACCTACACCTAGCAATCATCGTTTACC CGGTGGACTACCAGGG  
TATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGAGCCTCAACGTCAGTTACAGTCCAGTAAG  
CCGCCCTCGCCACTGGTGTTCCTCCTAATATCTACGCATTTACCCGCTACACTAGGAATT  
CCGCTTACCTCTCCTGCACTCCAGCCTGGCAGTTCCAAATGCAGTCCCAGGGTTGAGCCC  
TGGGTTTTACATCTGGCTTGTCTATGCCGCTACGCTCCCTTTACACCCAGTAAATCCGG  
ATAACGCTTGCCCCCTACGATTAACCGCGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGGGGCTTCTT  
AGTCAGGTACCGTCATTTTCTCCCTGCTGATAGAGCTTTACATACCGAAATACTTCTTC  
ACTCACGCGGGCTCGCTGCATCAGGGTTTCCCCCATTTGTCGAATATTCCCCACTGCTGCC  
TCCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTCTCTCAGTCCCAATGTGGCCGTTCAACCCTCTCAGGCCGG  
CTACTGATCGTCGCTTTGGTAGGCCGTTACCCCTGCCAACTGGCTAATCAGACGCGGGACC  
ATCCTGTACCACCGGAGTTTTTACACTGCCTCATGTGAAGCTGTGCGCTTATGCGGTAT  
TAGCACCTATTTCTAAGTGTATCCCCGGTACAGGGCAGGTTTCCACGCGTTACTCAC  
CCGTCCGCCACTAAGTTACGCCGATTCCATCCGAAAACCTTCCTCTGCATAACTCCGTCGA  
CTG

### HMI 28 Secuencia de ADNr 16S de Blautia producta (SEQ ID NO: 27)

CCGGTGGTCG CATCGGCGCT CCTCCTGTAG GTTGGGTCAC TGA CTTCGGG  
CGTTACTGAC TCCCATGGTG TGACGGGCGG TGTGTACAAG ACCCGGGAAC  
GTATTACCG CGACATTCTG ATTCGCGATT ACTAGCGATT CCAGCTTCGT  
GCAGTCGAGT TGCAGACTGC AGTCCGAACT GGGACGTTAT TTTTGGGATT  
TGCTCAACAT CGCTGTCTCG CTTCCCTTTG TTTACGCCAT TGTAGCACGT  
GTGTAGCCCA AATCATAAGG GGCATGATGA TTTGACGTCG TCCCCGCCTT  
CCTCCGGGTT ATCCCCGGCA GTCTCCCTAG AGTGCCAGC TTCACCTGCT  
GGCTACTAAG GATAGGGGTT GCGCTCGTTG CGGGACTTAA CCCAACATCT  
CACGACACGA GCTGACGACA ACCATGCACC ACCTGTCTCC TCTGCCCCGA  
AGGGAAGGCC CCGTTACGGG CCGGTCAGAG GGATGTCAAG ACTTGGTAAAG  
GTTCTTCGCG TTGCTTCGAA TTAAACCACA TGCTCCACCG CTTGTGCGGG  
TCCCCGTCAA TTCCTTTGAG TTTTATTCTT GCGAACGTAC TCCCCAGGTG  
GAATACTTAT TGCCTTTGCT GCGGCACCGA ATGGGCTTTG CCACCCGACA  
CCTAGTATTC ATCGTTTACG GCGTGGACTA CCAGGGTATC TAATCCTGTT  
TGCTCCCCAC GCTTTCGAGC CTCAACGTCA GTTACCGTCC AGAAAGCCGC  
CTTCGCCACT GGTGTTCTCT CTAATATCTA CGCATTCAC CGCTACACTA  
5 GGAATCCGC TTACCTCTCC GGC ACTCTAG AAAAAAGTT TCCAATGCAG

## ES 2 987 655 T7

TCCTGGGGTT AAGCCCCAGC CTTTCACATC AGACTTGCTC TTCCGTCTAC  
GCTCCCTTTA CACCCAGTAA ATCCGGATAA CGCTTGCCCC CTACGTATTA  
CCGCGGCTGA TGGCACGTAG TTAGCCGGGG CTTCTTAGTC AGGTACCGTC  
ATTTTCTTCC CTGCTGATAG AAGTTTACAT ACCGAGATAC TTCTTCCTTC  
ACGCGGCGTC GCTGCATCAG GGTTCCTCCC ATTGTGCAAT ATTCCCCT  
GCTGCCTCCC GTAGGAGTCT GGGCCGTGTC TCAGTCCCAA TGTGGCCGTT  
CACCTCTCA GGCCGGCTAC TGATCGTCGC CTTGGTGGGC CGTTACCCCT  
CCAAC TAGCT AATCAGACGC GGGTCCATCT CATAACCACCG GAGTTTTTCA  
CACCAGACCA TGGGTCCTG TGCCTTATG CGGTATTAGC AGCCATTCT  
AACTGTTATC CCCCTGTATG AGGCAGGTTA CCCACGCGTT ACTCAGCCCG  
TCCGCGCTC AGTCAAATAA GTTTCAATCC GAAGAGATCC ACTTAAGTGC  
TTCGCTCGAC TTGCATGTGT TAAGCACGCC GCCAGCGTTC ATCCT

### HMI\_29 Secuencia de ADNr 16S de Blautia glucerasea (SEQ ID NO: 28)

GCCTTCGGCAGCTCCGTCTTTTCGGTTCGGTCACTGACTTCGGGCGTTACTGACTCCCAT  
GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTACCGCGGCATTCTGATCCGC  
GATTACTAGCGATTCCAGCTTCGTGCAGTCGAGTTGCAGACTGCAGTCCGAACTGGGACG  
TTATTTTGGGATTTGCTTAAGCTCACACTCTCGCTTCCCTTTGTTTACGCCATTGTAGC  
ACGTGTGTAGCCAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTATCCCCGCTTCCTCCA  
GGTTATCCCTGGCAGTCTCCTCAGAGTGCCCGGCAAACCGCTGGCTACTAAGGATAGGG  
GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC  
ACCACCTGTCTCCGATGCTCCGAAGAAAAGGCGACGTTACTCGCCGGTCATAGGGATGTC  
AAGACTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGC  
GGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAATCTTTCGGAACGTACTCCCCAGGTGGAATACT  
TACTGCGTTTGTGCGGCACCGAATGGCTCTGCCACCCGACACCTAGTATTATCGTTTA  
CGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCACGCTTTCGAGCCTCAACGT  
CAGTTACCGTCCAGTAAGCCGCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCTAATATCTACGCATTT  
ACCGCTACACTAGGAATTCGCTTACCTCTCCGGTACTCAAGATCAACAGTTTCCAATGC  
AGTCCGGGGGTTGAGCCCCGCTTTTACATCAGACTTGCTGCTCCGTCTACGCTCCCTT  
TACACCCAGTAAATCCGATAACGCTTGCCCTTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGT  
AGTTAGCCGGGGCTTCTTAGTCAGGTACCGTCATTTTCTTCCCTGCTGATAGAAGTTTAC  
ATACCGAGATACTTCTTCTTACGCGGCGTGCCTGCATCAGGGTTTCCCCATTGTGCA  
ATATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGCTCAGTCCCAATGTGGCCG  
TCCACCTCTCAGGCCGGCTATGGATCGTCCGCTTGGTAGGCCGTTACCTGCCAACTGG  
CTAATCCAACGCGGGTCCATCTCACACCACGGAGTTTTTTCACACTGGATCATGCAATCC  
CGTGCCTTATGCGGTATTAGCAGTCATTTCTGACTGTTATCCCCAGTGTGAGGCAGGT  
TACCCACGCGTTACTCACCGTCCGCCACTAGGATTATAACGACTTCAACCGAAGTCTCT  
GTCAAATAATCCCCGTTTCGACTTGCATGTGT

5

### HMI\_30 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium straminisolvens (SEQ ID NO: 29)

## ES 2 987 655 T7

AGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGTAACCTGCCTTTAGGAGGGGGACAACATTCGAAAGGGATGCTAATA  
CCGCATAAAATTATTGTATCGCATGGTATAATAATCAAAGATTTATCGCCTAAAGATGGACTCGCGTCCGATTAG  
CTAGTTGGTGGGGTAAAAGCCTACCAAGGCGACGATCGGTAGCCGAAGTGGAGGTTGATCGGCCACATTGGGAC  
TGAGACACGGUCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGGATATTTGCGCAATGGGGGAAACUCTGACGCAGCAA  
CGCCGCGTGAAGGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAACTTCTTTAAGTGTGGAAGATAATGACGGTACACACAGAAT  
AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGTGTA  
AAGGGCGTGTAGCCGGTAGACAAGTCAAGATGTGAAATACCGGGGCTCAACTCCGGGGCTGCATTTGAAACTGTA  
TATCTTGAGTGTCCGAGAGGAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAG  
TGGCGAAGGCGGCTTTCTGGACGATAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCC  
TGGTAGTCCACGCCGTAACGATGGATACTAGGTGTAGGAGGTATCGACCCCTTCTGTGCCGAGTTAACACAAT  
AAGTATCCCACCTGGGAGTACGGTCCGAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCAGTGG  
GTATGTGGTTTTAATTGCAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCCCACGCATAGCCTAGAGATAGGT  
GAAGTCTACGGGACGTGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCC  
CGCAACGAGCGCAACCCCTTACTGTGAGTTACCATCATTAAGTTGGGGACTCTGGCAGGACTGCCGGTGACAAATC  
GGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTGGGCTACACACGTACTACAATGGCTGTTA  
ACAAAGTGAAGCAAAGCAGTGTGTGGAGCAAACACAAAAGCAGTCTCAGTTCAGATTGTAGGCTGAAACTCG  
CCTATATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACA  
CCGCCGTCACACCATGAGAGTCGATAACACCCGAAGCCTGT

### HMI 31 Secuencia de ADNr 16S de *Butyricoccus pullicaecorum* (SEQ ID NO: 30)

AGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGCAATCTGCCTTTAAGAGGGGGATAACAGTCCGAAACGGCTGCTAATA  
CCGCATAAAGCATCGAAACCGCATGATTTTGATGCCAAAGGAGCAATCCGCTTTTAGATGAGCTCGCGTCTGATT  
AGCTGGTTGGCGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACTGAGAGGTTGAACGGCCACATTGGG  
ACTGAGACACGGUCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATAATTTGCGCAATGGGGGAAACUCTGACGCAGC  
AACGCCGCGTGAAGGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGATCTTTAATCAGGGACGAAACAAATGACGGTACCTGA  
AGAATAAGCTCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGAGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGG  
GTGTAAGGGCGCGCAGGCGGGCCGGTAAGTTGGAAGTGAATCTATGGGCTTAACCCATAAACTGCTTTTCAA  
CTGCTGGTCTTGAGTGTGGAGAGGCAGGCGGAATTCGCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATACGGAGGAAC  
ACCAAGTGGCGAAGCGGCCCTGCTGGACATTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGA  
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGGATACTAGGTGTGGGAGGTATTGACCCCTTCCGTGCCGAGTTAAC  
ACAATAAGTATCCCACCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCA  
GTGGAGTATGTGGTTTTAATTGCAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCCGATGACCGCCTCAGAG  
ATGAGCCTTTTCTTCGGAACATCGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTT  
AAGTCCCACAGGCGCAACCCCTTACGGTTAGTTGATACGCAAGATCACTCTAGCCGACTGCCGTTGACAAAA  
CGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTACTACAATGGCAGTC  
ATACAGAGGGAAGCAAACCGCGAGGTGGAGCAAATCCCTAAAAGCTGTCCAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACC  
CGCCTGCATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA  
5 CACCGCCGTCACACCATGAGAGCCGTCATACCCGAAGTCCGT

### HMI 32 Secuencia de ADNr 16S de *Clostridium maritium* (SEQ ID NO: 31)

## ES 2 987 655 T7

CTACACTGCA GTCGAGCGAT TTCTTCGGTA AGAGCGGCGG ACGGGTGAGT  
AACCGGTGGG TAACCTGCCC TATACACACG GATAACATAC CGAAAGGTAT  
GCTAATACGA GATAACATAA GAGATTGCGA TGGATTCTT ATCAAAGCTT  
TTGCGGTATA GGATGGACCC GCGTCTGATT AGCTAGTTGG TAAGGTAACG  
GCTTACCAAG GCGACGATCA GTAGCCGACC TGAGAGGGTG ATCGGCCACA  
TTGGAAGTGA GACACGGTCC AAACCTCTAC GGGAGGCAGC AGTGGGGAAAT  
ATTGCACAAT GGGCGAAAGC CTGATGCAGC AACGCCGCGT GAGCGATGAA  
GGCCTTCGGG TCGTAAAGCT CTGTCCCTCA GGAAGATAAT GACGGTACTT  
GAGGAGGAAG CCCCGGCTAA CTACGTGCCA GCAGCCGCGG TAATACGTAG  
GGGGCTAGCG TTATCCGGAA TTAAGGGTGC TAAAGGGTGC GTAGGTGGTT  
TCTTAAGTCA GAGGTGAAAG GCTACGGCTC AACCGTAGTA AGCCTTTGAA  
ACTGAGAAAC TTGAGTGCAG GAGAGGAGAG TAGAATTCCT AGTGTAGCGG  
TGAAATGCGT AGATATTAGG AGGAATACCA GTTGCGAAGG CGGCTCTCTG  
GACTGTAAGT GACACTGAGG CACGAAAGCG TGGGGAGCAA ACAGGATTAG  
ATACCCTGGT AGTCCACGCC GTAAACGATG AGTACTAGCT GTCGGAGGTT  
ACCCCTTCG GTGGCGCAGC TAACGCATTA AGTACTCCGC C

### HMI 33 Secuencia de ADNr 16S de Eubacterium fissicatens (SEQ ID NO: 32)

AGTGGCGGAC GGGTGAGTAA CGCGTGGGTA ACCTGCCTTG TACAGGGGGA  
TAACAGTTAG AAATGACTGC TAATACCGCA TAAGCGCACA GTATCGCATG  
GTACAGTGTG AAAAATCCG GTGGTACAAG ATGGACCCGC GTCTGATTAG  
CTAGTTGGTA AGGTAACGGC TTACCAAGGC AACGATCAGT AGCCGACTTG  
AGAGAGTGAT CGGCCACATT GGGACTGAGA CACGGCCCAA ACTCCTACGG  
GAGGCAGCAG TGGGGAATAT TGCACAATGG GGGAAACCCT GATGCAGCGA  
CGCCCGGTGA GTGAAGAAGT ATTTCCGTAT GTAAAATCT ATCAGCAAGG  
AAGATAATGA CGTACTTGA CTAAGAAGCC CCGGCTAACT ACCTGCCAGC  
AGCCGCGGTA ATACGTAGGG GGCAAGCGTT ATCCGGATTT ACTGGGTGTA  
AAGGGAGCGT AGACGGTATG GTAAGTCAGA TGTGAAAGCC CGGGGCTTAA  
CCCCGGAAT GCATTTGAAA CTATCAAAT AGAGTGTCCG AGAGGTAAGT  
GGAATTCCTA GTGTAGCGGT GAAATGCGTA GATATTAGGA GGAACACCAG  
TGGCGAAGGC GGCTTACTGG ACGATAACTG ACCTTGAGGC TCGAAAGCGT  
GGGGAGCAA CAGGATTAGA TACCCTGGTA GTCCACGCCG TAAACGATGA  
ATACTAGGTG TCAGGGAACA ATAGTTCTTT GGTGCCGAG CAAACGCATT  
AAGTATCCA CCTGGGGAGT ACGTTCGCAA GAATGAACT CAAAGGAATT  
GACGGGGACC CGCACAAGCG GTGGAGCATG TGGTTTAATT CGAAGCAACG  
5 CGAAGAACCT TACCTGGTCT TGACATCCCA ATGACGCCTC TTTAATCGGA  
GGTTTCCTTC GGGACATTGG AGACAGGTGG TGCATGGTTG TCGTCAGCTC  
GTGTCGTGAG ATGTTGGGTT AAGTCCCGCA ACGAGCGCAA CCCTTATCTT  
TAGTAGCCAG CAGTTCGGCT GGGCACTCTA GAGAGACTGC CAGGGATAAC  
CTGGAGGAAG GTGGGGATGA CGTCAAATCA TCATGCCCT TATGACCAGG  
GCTACACACG TGCTACAATG GCGTAAACAA AGGGAAGCAA AACTGTGAGG  
TTGAGCAAAT CCCAAAATA ACGTCTCAGT TCGGATTGTA GTCTGCAACT  
CGACTACATG AAGCTGGAAT CGCTAGTAAT CGCAGATCAG AATGCTGCGG  
TGAATACGTT CCCGGTCTT GTACACACCG CCCGTCACAC CATGGGAGTC  
GGATATGCC GAAGTCAGTG ACCCAACCGT AAGGAGGGAG CTGCCGAAGG  
TGGAGCCGAT AACTGGGGTG AAGTCGT

HMI 34 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium saccharolyticum (SEQ ID NO: 33)

AGCGGCGGAC GGGTGAGTAA CGCGTGGGTA ACCTGCCTCA TACAGGGGGA  
 TAACAGTTAG AAATGACTGC TAATACCGCA TAAGCGCACA GTGCTGCATG  
 GCACAGTGTG AAAAACTCCG GTGGTATGAG ATGGACCCGC GTTGGATTAG  
 GCAGTTGGCG GGGTAACGGC CCACCAAACC GACGATCCAT AGCCGGCCTG  
 AGAGGGTGAA CGGCCACATT GGGACTGAGA CACGGCCCAA ACTCCTACGG  
 GAGGCAGCAG TGGGGAATAT TGCACAATGG GGGAAACCCT GATGCAGCGA  
 CGCCGCGTGA GTGAAGAAGT AATTCGTTAT GTAAAGCTCT ATCAGCAGGG  
 AAGAAAATGA CGGTACCTGA CTAAGAAGCC CCGGCTAACT ACGTGCCAGC  
 AGCCGCGGTA ATACGTAGGG GGCAAGCGTT ATCCGGATTT ACTGGGTGTA  
 AAGGGAGCGT AGACGGCCGT GCAAGTCTGA TGTGAAAGGC TGGGGCTCAA  
 CCCC GGACT GCATTGAAA CTGTATGGCT GGAGTGCCGG AGAGGTAAGC  
 GGAATTCCTA GTGTAGCGGT GAAATGCGTA GATATTAGGA GGAACACCAG  
 TGGCGAAGGC GGCTIACCTG ACGGTAAGT ACCTTGAGGC TCGAAAGCGT  
 GGGGAGCAA CAGGATTAGA TACCCTGGTA GTCCACGCCG TAAACGATGA  
 TTACTAGGTG TTGGGGGACA TGGTCCCTCG GTGCCGCCGC AAACGCAGTA  
 AGTAATCCAC CTGGGGAGTA CGTTCGCAAG AATGAAACTC AAAGGAATTG  
 ACGGGGACCC GCACAAGCGG TGGAGCATGT GGTTTAATTC GAAGCAACGC  
 GAAGAACCTT ACCAAGTCTT GACATCGAGA GGACAGAGTA TGTAATGTAC  
 TTTCCCTTCG GGGCCTCGAA GACAGGTGGT GCATGGTTGT CGTCAGCTCG  
 TGTCGTGAGA TGTGGGTTA AGTCCCGCAA CGAGCGCAAC CCCTATCTTC  
 AGTAGCCAGC AATTCGGATG GGCACCTCTG AGAGACTGCC GGGGATAACC  
 CGGAGGAAGG CGGGGATGAC GTCAAATCAT CATGCCCTT ATGACTTGGG  
 CTACACACGT GCTACAATGG CGTAAACAAA GGAAGCGAG GGAGTGATCC  
 GGAGCAAATC CAAAAAATAA CGTCTCAGTT CGGATTGTAG TCTGCAACTC  
 GACTACATGA AGCTGGAATC GCTAGTAATC GCGAATCAGC ATGTCGCGGT  
 GAATACGTTT CCGGGTCTTG TACACACCGC CCGTCACACC ATGGGAGTCG  
 ATAACGCCC AAGTCAGTGA CCCAACCGAA AGGAGGGAGC TGCCGAAGGC  
 GGGATTGCTA ACTGGGGTGA AGTCGT

5

HMI 35 Secuencia de ADNr 16S de Blautia luti (SEQ ID NO: 34)

10

## ES 2 987 655 T7

AGTGGCGGAC GGGTGAGTAA CGCGTGGGTA ACCTGCCTTA TACTGGGGGA  
TAACAGCCAG AAATGGCTGC TAATACCGCA TAAGCGCACG GGGCCGCATG  
GTCCTGTGTG AAAAACTCCG GTGGTATAAG ATGGACCCGC GTTGGATTAG  
CTAGTTGGCA GGGCAGCGGC CTACCAAGGC GACGATCCAT AGCCGGCCTG  
AGAGGGTGAA CGGCCACATT GGGACTGAGA CACGGCCCAG ACTCCTACGG  
GAGGCAGCAG TGGGAATAT TGCACAATGG GGGAAACCCT GATGCAGCGA  
CGCCGCGTGA AGGAAGAAGT ATCTCGGTAT GTAAACTTCT ATCAGCAGGG  
AAGATAATGA CGGTACCTGA CTAAGAAGCC CCGGCTAACT ACGTGCCAGC  
AGCCGCGGTA ATACGTAGGG GGCGAGCGTT ATCCGGATTT ACTGGGTGTA  
AAGGGAGCGT AGACGGCGTA TCAAGTCTGA TGTGAAAGGC AGGGGCTTAA  
CCCCTGGACT GCATTGGAAG CTGGTATGCT TGAGTGCCGG AGGGGTAAGC  
GGAATTCCTA GTGTAGCGGT GAAATGCGTA GATATTAGGA GGAACACCAG  
TGGCGAAGGC GGCTTACTGG ACGGTAAGT ACGTTGAGGC TCGAAAGCGT  
GGGGAGCAA CAGGATTAGA TACCCTGGTA GTCCACGCCG TAAACGATGA  
ATACTAGGTG TCTGGGAGCA CAGCTCTTAG GTGCCGCCG AAACGCATTA  
AGTATCCAC CTGGGGAGTA CGTTCGCAAG AATGAAACTC AAAGGAATTG  
ACGGGGACCC GCACAAGCGG TGGAGCATGT GGTTTAATTC GAAGCAACGC  
GAAGAACCTT ACCAAATCTT GACATCCCTC TGACAGAGTA TGTAATGTAC  
TTTTCTTCG GGACAGGGGA GACAGGTGGT GCATGGTTGT CGTCAGCTCG  
TGTCGTGAGA TGTGGGTTA AGTCCCACG CGAGCGCAAC CCCTATCCTT  
AGTAGCCAGC AAGTAATGTT GGGCACTCTG AGGAGACTGC CAGGCATAAC  
CTGGAGGAAG GCGGGGATGA CGTCAAATCA TCATGCCCT TATGATTTGG  
GCTACACACG TGCTACAATG GCGTAAACAA AGGGAAGCGA ACCTGTGAGG  
GTGGGCAAAT CTCAAAAATA ACGTCCCAGT TCGGACTGCA GTCTGCAACT  
CGACTGCACG AAGCTGGAAT CGCTAGTAAT CGCGGATCAG AATGCCGCGG  
TGAATACGTT CCCGGTCTT GTACACACCG CCCGTCACAC CATGGGAGTC  
AGTAACGCC GAAGTCAGTG ACCTAACCGT AAGGAAGGAG CTGCCGAAGG  
CGGCACGGAT GACTGGGGT AAGTCGT

### HMI\_36 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium methylpentosum (SEQ ID NO: 35)

GGTTACCTTGTACGACTTCACCCCAATCATCAACCCACCTTCGACGACGTCCCCCTTG  
CGGTTAGACTATCGGCTTCGGGTGTTGCCAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACA  
AGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCAATTCGGCTTC  
ATGCAGGCGGGTTGCAGCCTGCAATCCGAACTGAGACTATTTTTAGGGGTTTGCTCCATG  
TCACCATCTTGCTTCCCTCTGTTAATAGCCATTGTAGTACGTGTGTAGCCCAGGTCATAA  
GGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGTTTTGTCAACGGCAGTCCGTCT  
5 AGAGTGCTCTTGCGTAGCAACTAAACGTAAGGGTTCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAA

## ES 2 987 655 T7

CATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCTCGGTGCCCCGAAGGGCT  
TCACCTATCTCTAGGCTATGCACCGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTT  
CGAATTAAACCACATACTCCACTGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCCTTTGAGTTTCAA  
CCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGTGGATTACTTATTGTGTTAACTCCGGCACGGAAGGGGT  
CAGTCCCCCACACCTAGTAATCATCGTTTACAGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCT  
GTTTGCTACCCACGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTAAAGCCCAGCAGGCCGCTTCGCC  
ACTGGTGTTCCTCCTAATATTTACGCATTTACCCGCTACACTAGGAATTCCGCCTGCCTC  
TACTTCACTCAAGAACTGCAGTTTTGAACGCGGCTATGGGTTGAGCCCATAGATTTAACA  
TTCAACTTGCAATCCCGCCTACGCTCCCTTTACACCCAGTAATTCCGGACAACGCTCGCT  
ACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTAGCTTCCTCCTTGGTTACCG  
TCATTATCTTACCAAGGACAGAGTTTTACAATCCGAAAACCTTCTTCCCTCACTCGGCC  
TCGCTGCATCAGGGTTTCCCCATTGTGCAATATTTCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGT  
CTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGTTCAACCTCTCAGTCCGGCTACCAATCGTC  
GCCTTGGTGGGCCGTTACCTACCAACTAGCTAATTGGACGCGAGTCCATCTTTAGCGG  
ATTGCTCCTTTGATATCAGCTCCATGCGAAAACCAATATGTTATGCGGTATTAGCGTCCGT  
TTCCAGACGTTATCCCCCTCTGAAAGGCAGGTTACTCACGCGTTACTCACCCGTCGCGCA  
CTAAGTTGAATCAAATTCCTTCCGAAGAATTCATTCAAAGCAACTTCGTGACTTGCATG  
TGTAAGGCGCGCCGACAGCGTTCGT

### HMI\_37 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium xylanolyticum (SEQ ID NO: 36)

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAACACATGCAAGTCGAAC  
GGAATTTACATGAAGCCTAGCGATTGTAAATTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGG  
GTAACCTGCCTTGTACTGGGGACAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATAAGCGC  
ACAGCTTCGCATGAAGCAGTGTGAAAAACTCCGGTGGTACAAGATGGACCCCGCTCTGAT  
TAGCTGGTTGGTGAGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCCTGAGAGGGT  
GAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAA  
TATTGCACAATGGGGAAACCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGAAGTATTTCCG  
TATGTAAAGCTCTATCAGCAGGAAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTA  
ACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGT  
GTAAAGGGAGCGTAGACGGTTTTGCAAGTCTGAAGTGAAGCCCCGGGGCTTAACCCCGGG  
ACTGCTTTGGAACTGTAGGACTAGAGTGCAGGAGAGGTAAGTGAATTCCTAGTGTAGC  
GGTGAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACTGTAA  
CTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG  
CCGTAAACGATGATTACTAGGTGTTGGTGGGTACGACCCATCGGTGCCGCAGCAAACGCA  
ATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGA  
CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGT  
CTTGACATCCCTATGAATAACGGGCAATGCCGTTAGTACTTCGGTACATAGGAGACAGGT  
GGTGCATGGTTGTCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC  
AACCTTATCTTTAGTAGCCAGCAGTAAGATGGGCACTCTAGAGAGACTGCCGGGGATAA  
5 CCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCAGGGCTACACAC  
GTGCTACAATGGCGTAAACAAAGAGAAGCGAAGTCGTGAGGCAGAGCGAATCTCAAAAAT  
AACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAA  
TCGCAGATCAGAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACA  
CCATGGGAGTCGGAAATGCCGAAGTCGGTACCTAACCGAA

HMI 38 Secuencia de ADNr 16S de Oscillibacter valericigenes (SEQ ID NO: 37)

CTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAACGGAGCACCCCTTGACT  
 GAGGTTTCGGCCAAATGATAGGAATGCTTAGTGGCGGACTGGTGAGTAACGCGTGAGGAA  
 CCTACCTTCCAGAGGGGGACAACAGTTGGAAACGACTGCTAATACCGCATGACGCATGAC  
 CGGGGCATCCC GGCGCATGTCAAAGATTTTATCGCTGGAAGATGGCCTCGCGTCTGATTAG  
 CTAGATGGTGGGGTAACGGCCACCATGGCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGAC  
 CGGCCACATTGGGACTGAGATACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATAT  
 TGGGCAATGGACGCAAGTCTGACCCAGCAACGCCGCTGAAGGAAGAAGGCTTTCGGGTT  
 GTAAACTTCTTTTGT CAGGGAAGAGTAGAAGACGGTACCTGACGAATAAGCCACGGCTAA  
 CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTACTGGGTG  
 TAAAGGGCGTGACGCCGGCCGGCAAGTCAGATGTGAAATCTGGAGGCTTAACCTCCAAA  
 CTGCATTTGAAACTGTAGGTCTTGTAGTACCGGAGAGGTTATCGGAATTCCTTGTGTAGCG  
 GTGAAATGCGTAGATATAAGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGATAACTGGACGGCAAC  
 TGACGGTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGC  
 TGTAACGATGGATACTAGGTGTGCGGGGACTGACCCCTGCGTGCCGCAGTTAACACAA  
 TAAGTATCCACCTGGGGAGTACGATCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC  
 CCGCACAAAGCGGTGGATTATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGGC  
 TTGACATCTACTAACGAAGTAGAGATACATCAGGTGCCCTTCGGGGAAAGTAGAGACAG  
 GTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGC  
 GCAACCCCTATTGTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGCGAGACTGCCGTTGACAAAAC  
 GGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTGGGCTACACACGTA  
 ATACAATGGCGGTCAACAGAGGGAGGCAAAGCCGCGAGGCAGAGCAAACCCCAAAAGCC  
 GTCCCAGTTCGGATCGCAGGCTGCAACCCGCTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCG  
 CGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCGCCGGCCTGTACACACCGCCCGTCACACCA  
 TGAGAGTCGGGAACACCCGAAGTCCGTAGCCTAACCGCAAGGAGGGCGCGCCGAAGGTG  
 GGTTCGATAAATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCG

5 HMI 39 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus obeum (SEQ ID NO: 38)

AGTCGAACGGGAACCTTTTATTGAAGCTTCGGCAGATTTAGCTGGTTTCTAGTGGCGGAC  
 GGGTGAGTAACGCGTGGGTAACCTGCCCTATACAGGGGGATAACAACCAGAAATGGTTGC  
 TAATACCGCATAAGCGCACAGGACCGCATGGTCCGGTGTGAAAACTCCGGTGGTATAGG  
 ATGGACCCGCGTTGGATTAGCCAGTTGGCAGGGTAACGGCCTACCAAAGCGACGATCCAT  
 AGCCGGCCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGG  
 GAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGGAAACCCTGATGCAGCGACCGCGCTGA

## ES 2 987 655 T7

AGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGATAGTGACGGTACCTGA  
CTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTT  
ATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGATTAGCAAGTCTGATGTGAAAGGC  
AGGGGCTCAACCCCTGGACTGCATTGGAACTGCCAGTCTTGAGTCCCGGAGAGGTAAGC  
GGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGC  
GGCTTACTGGACGGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGA  
TACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCG  
GTGCCGCCGCAAACGCATTAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTCCGAAGAATGAAACTC  
AAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGC  
GAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCCCTCTGACGGACTCTTAACCGAGTCTTTCCTTCG  
GGACAGAGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTA  
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCCAGTAGCCAGCATTTCCGGATGGGCACTCTGA  
GGAGACTGCCAGGGATAACCTGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT  
ATGATTTGGGCTACACACGTGTACAATGGCGTAAACAAGGGAAGCGAGCCTGCGAGGG  
TAAGCAAATCCCAAAAATAACGTCCCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTCGACTGCACGA  
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATCCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTG  
TACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTCAAGTAAACGCCCGAAGTCAAGTACCTAACCGCA  
AGGGAGGAGCTGCCGAAGGCGGGACCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCGT  
GACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCCGGTGAATACGTTCC  
CGGGTCTGTACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTCAAGTAAACGCCCGAAGTCAAGTACCG  
TAACCGCAAGGAAGGAGCTGCCGAAGGCGGGACCGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACA

### HMI 40 Secuencia de ADNr 16S de Megasphaera elsdenii (SEQ ID NO: 39)

ACGCGTAAGCAACCTGCCCTCCGGATGGGGACAACAGCTGGAACCGCTGCTAATACCGA  
ATACGTTTCCATTGCCGCATGGCAGTGGGAAGAAAGTGGCCTCTGAATATGCTACCGCC  
GGGGGAGGGGCTTGCCTCTGATTAGCTAGTTGGAGGGGTAACGGCCACCAAGCGCACGA  
TCAGTAGCCGGTCTGAGAGGATGAACGGCCACATTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCC  
TACGGGAGGCAGCAGTGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCG  
CGTGAGCGAAGACGGCCTTCGGGTTGTAAAGCTCTGTATACGGGACGAACGGCTAGTGT  
GCCAATACCACATTAGAATGACGGTACCCTAAGAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG  
CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCGCG  
CAGGCGGTTTCATAAGTCTGTCTTAAAAGTGGGGGCTTAACCCCGTGGGGGACGGAAA  
CTGTGAGACTGGAGTGTGGGAGAGGAAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTA  
GATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAAGCGGCTTCTGGACGACAACTGACGCTGAGGC  
GCGAAAGCCAGGGGAGCGAACGGGATTAGATACCCCGGTAGTCTGGCCGTAAACGATGG  
ATACTAGGTGTAGGGGTATCGACCCCTCCTGTGCCGGAGTTAACGCAATAAGTATCCCG  
CCTGGGGAGTACGGCCGAAGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCC  
GTGGAGTATGTGGTTAATTTCGACGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAGCCTTGACATTGAG  
TGCTATCCTCAGAGATGAGGAGTTCTTCTTCGGAAGACCGGAAAACAGGTGGTGCACGGC  
TGTCGTGAGTCTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATC

5

## ES 2 987 655 T7

TTCTGTTGCCAGCGCGTCATGGCGGGGACTCAGGAGAGACTGCCGCAGACAATGCGGAGG  
AAGGCGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTATGGCTTGGGCTACACACGTAACA  
ATGGCTCTTAATAGAGGGAAGCGAAGGAGCGATCCGGAGCAAACCCAAAAACAGAGTCC  
CAGTTCGGATTGCAAGGCTGCACCCCGCCTGCATGAAGCAGGAATCGCTAGTAATCGCAGG  
TCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAA  
AGTCATTACACCCGAAGCCGGTGAAGTAACCGTAAGGAGCCAGCCGTCGAAGGTGGGG  
CGATGATTGGGGTGAAGTCGTAA

### HMI 41 Secuencia de ADNr 16S de Blautia luti (SEQ ID NO: 40)

GGTGAGTAACCGGTGGGTAACCTGCCTTATACAGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCT  
AATACCGCATAAGCGCACAGGGCCGCATGGCCCGGTGTGAAAACTGAGGTGGTATAAGA  
TGGACCCGCGTTGGATTAGCCAGTTGGCAGGGTAACGGCCTACCAAAGCGACGATCCATA  
GCCGGCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGG  
AGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCCTGATGCAGCCAGCCCGCTGAA  
GGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGAC  
TAAGAAGCCCCGGTAACCTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTA  
TCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGCATAACAAGTCTGATGTGAAAGGCT  
GGGGCTTAACCCCGGACTGCATTGAACTGTAAAGCTTGAGTGCCGGAGGGGTAAGCG  
GAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCCTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGCCGAAGCC  
GCTTACTGGACGGTAACCTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT  
ACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACCGATGAATACTAGGTGTCCGGGAGCACAGCTCTTCGG  
TGCCCGCCGAAACGCATTAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTCCGCAAGAATGAACTCA  
AAGGAATTGACGGGGACCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCC  
AAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCTGCCTGACCGGTGAGTAACGTCACCTTTCCTTCGG  
GACAGGCAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAA  
GTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCCCAAGTAGCCAGCATGTAAGGTGGGCACTCTGA  
GGAGACTGCCAGGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT  
ATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAGAGGGAAGCGAAAGGTTGACCT  
GGAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGTTCGGACTGTAGTCTGCAACCCGACTACACGA  
AGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTG  
TACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCCCGAAGTCAGTGACCTAACCGAA  
5 AGGGAGGAGCTGCCGAAGCGGGACGGATGACTGGGGTGAAGTCGTAA

### HMI 42 Secuencia de ADNr 16S de Bacteroides coprocola (SEQ ID NO: 41)

GTATCCAACCTTCCGTTTACTCAGGGATAGCCTTTCGAAAGAAAGATTAATACCTGATAG  
TATGGTAAGATTGCATGATAATACCATTAAAGATTCATCGGTAAACGATGGGGATGCGTT  
CCATTAGGTAGTAGGGGGGTAACGGCCACCTAGCCGACGATGGATAGGGGTTCTGAGA  
GGAAGGTCCCCACATTGGAAGTGAACACGGTCCAACTCTACGGGAGGCAGCAGTGA  
GGAATATTGGTCAATGGCGAGAGCCTGAACCAGCCAAGTAGCCTGAAGGATGAAGGTTT

10

TATGGATTGTAACTTCTTTTATAAGGGAATAAAGTGCTTTACGTGTAGAGTTTTGTATG  
TACCTTATGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGATGC  
GAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGAGCGTAGACGGGATGTTAAGTCAGCTGT  
GAAAGTTTGGGGCTCAACCTTAAAATTGCAGTTGAACTGGCGTCTTGAGTGCGGTAGA  
GGCAGGGGAATTCTGGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATCACGAAGAACCCCGATTG  
CGAAGGCAGCTTGCTGGAGCGTAACTGACGTTGATGCTCGAAAGTGTGGGTATCAAACAG  
GATTAGATACCTGGTAGTCCACACGGTAAACGATGGATACTCGCTGTTGGCGATATACG  
GTCAGCGGCCAAGCGAAAGCATTAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGCCGGCAACGGTGAA  
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGAGGAACATGTGGTTAATTCGATGAT  
ACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTAAATTATGCATGAATGATCTGGAGACAGATCAGCCG  
CAAGGCATGTATGAAGGTGCTGCATGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTCGGCTT  
AAGTGCCATAACGAGCGCAACCCTTCTGCCAGTTACTAACAGGCAATGCTGAGGACTCT  
GGCGTACTGCCATCGTAAGATGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCAGCACGGCCC  
TTACGTCGGGGCTACACACGTGTTACAATGGGGGTACAGAAGGCAGCTTACCGGGCAG  
GGTTGGCCAATCCCTAAAGCCCTCTCAGTTCGGACTGGAGTCTGCAACCCGACTCCACC  
AAGCTGGATTTCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCACGGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCT  
TGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGAAAGCCGGGAGTACCTGAAGTGCCTAACCGCGAGG  
AGCGCCCTAGGGTAACACTGGTAATTGGGGCTAAGTCGT

**HMI 43 Secuencia de ADNr 16S de Bacteroides plebius (SEQ ID NO: 42)**

GGGGCAGCATGAACTTAGCTTGTCTAAGTTCGATGGCGACCGGGCCACCCTTGAGTAACGC  
GTATCCAACCTTCCGTACACTCAGGAATAGCCTTTCGAAAGAAAGATTAATACCTGATGG  
TATGATGGGATTGCATGAAATCATCATTAAGATTTCATCGGTGTACGATGGGGATGCGTT  
CCATTAGATAGTAGCGGGGTAAACGGCCACCTAGTCGACGATGGATAGGGGTTCTGAGA  
GGAAGGTCCCCACATTGAACTGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGA  
GGAATATTGGTCAATGGGCGGAGCCTGAACCAGCCAAGTAGCGTGAAGGATGAAGGTCC  
TACGGATTGTAACTTCTTTTATAAGGGAATAAAGTCACCCACGTGTGGGTGTTTGTATG  
TACCTTATGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAGGATGC  
GAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGAGCGTAGACGGGTCGTTAAGTCAGCTGT  
GAAAGTTCGGGGCTCAACCTTAAAATTGCAGTTGATACTGGCGTCTTGAGTACGGTTGA  
GGCAGGGGAATTCTGGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATCACGAAGAACCCCGATTG  
CGAAGGCAGCTTGCTAAACCGCCACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTATCAAACAG  
GATTAGATACCTGGTAGTCCACACGGTAAACGATGGATACTCGCTGTTGGCGATAGACT  
GTCAGCGGCTTAGCGAAAGCGTTAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGCCGGCAACGGTGAA  
ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAGCGGAGGAACATGTGGTTAATTCGATGAT  
ACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTGAATTGCAGACGAATTGCTTGGAAACAGGCAAGCCG  
CAAGGCGTCTGTGAAGGTGCTGCATGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTCGGCTT  
AAGTGCCATAACGAGCGCAACCCTCGTGTCAGTTGCTAGCAGGTAGTCTGAGGACTCT  
GGACAGACTGCCATCGTAAGATGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCAGCACGGCCC  
TTACGTCGGGGCTACACACGTGTTACAATGGGGGTACAGCAGGCAGCTACCGGGCGAC  
CGGATGCCAATCCCGAAAGCCTCTCTCAGTTCGGACTGGAGTCTGCAACCCGACTCCACG  
AAGCTGGATTTCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCACGGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCT  
TGTACACACCGCCCGTCAAGCCATGAAAGCCGGGGGTACCTGAAGTGCCTAACCGCAAGG  
AGCGCCCTAGGGTAAAACCTGGTAATT

5

**HMI 44 Secuencia de ADNr 16S de Roseburia inulinivorans (SEQ ID NO: 43)**

GCAC TTTT GCCGAT TTTCTTCGGAACTGAAGTAATAGTGACTGAGTGGCGGACGGGTGAG  
TAACGCGTGGATAACCTGCCTCACACAGGGGGATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACC  
GCATAAGCGCACAGTACCGCATGGTACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTGTGAGATGGATC  
CGCGTCTGATTAGCCAGTTGGCGGGTAACGGCCACC AAAGCGACGATCAGTAGCCGGC  
CTGAGAGGGCGACCGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAG  
CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGAAACCTGATGCAGCGACCCGCGTGAGCGAAGA  
AGTATTTCCGGTATGTAAGCTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAA  
GCTCCGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTATGGAGCAAGCGTTATCCGGA  
TTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGCAGGCGGTATGACAAGTCTGATGTGAAAGGCTGGGGCT  
CAACCCAGGACTGCATTGGAACTGTCAGACTAGAGTGTGCGAGAGGTAAGTGAATTC  
CTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTAC  
TGGACGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG  
GTAGTCCACGCCGTAACGATGAATACTAGGTGTGCGGAGGCAGACCTTTCCGTGCCGC  
AGCAAACGCAGTAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGAATGAAACTCAAAGGAA  
TTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACCGAAGAAC  
CTTACCAGGCCTTGACATCCCCTGACGGGACAGTAATGTGTCCGTTCCCTTCGGGACAGA  
GGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG  
CAACGAGCGCAACCCTTATCCTCAGTAGCCAGCGGATAAAGCCGGGCACTCTGTGGAGAC  
TGCCAGGGACAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGGCC  
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGAAGCTGTGAAGTGAAGCA  
AATCCCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGG  
AATCGCTAGTAATCGGAATCAGAATGTGCGGGTGAATACGTTCCCGGTCTTGTACACA  
CCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGAATGCCGAAGCCGGTGACCCAACCTTAAGGAGG  
GAGCCGTCGAAGGCAGGCCTGATAACTGGGGTGAAGTCGT

**HMI 45 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus albus (SEQ ID NO: 44)**

CTGATCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGCAATCTGCCTTTCAGAGGGGGATAC  
CGATTGGAAACGATCGTTAATACCGCATAACATAATTGAACCGCATGATTTGATTATCAA  
AGATTTATCGCTGAAAGATGAGCTCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTA  
CCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACTGAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACAC  
GGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTCACAAATGGAGGAAACTCTGAT  
GCAGCGATGCCCGTGAGGGAAGAAGGTTTTAGGATTGTAAACCTCTGTCTTCAGGGACG  
AAAAAAGACGGTACCTGAGGAGGAAGCTCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAT

5

## ES 2 987 655 T7

ACGTAGGGAGCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGGCCGGGATCGC  
AAGTCAGATGTGAAAACCTATGGGCTTAACCCATAAACTGCATTTGAAAACCTGTGGTTCTTG  
AGTGAAGTAGAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGG  
AACATCAGTGGCGAAGCGGGCTTACTGGGCTTTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAAGCGTGG  
GGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGATTACTAGGTGTG  
GGGGGACTGACCCCTTCCGTGCCGACGCAAACGCAATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACG  
ACCGCAAGGTTGAAAACCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGG  
ATTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCGTATGCATAGCTCAGA  
GATGAGTGAAATCTCTTCGGAGACATATAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGT  
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACGAGCGCAACCCTTACTGTTAGTTGCTACCG  
AAGAGCACTCTAGCAGGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAAT  
CATCATGCCCTTATGACCTGGGCTCACACGTAACAATGGCTGTTAACAGAGGGATG  
CAAAGCCGCGAGGTAGAGCGAACCCCTAAAAGCAGTCTTAGTTCGGATTGTAGGCTGCAA  
CCCGCTACATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCAGATCAGCATGCTGCGGTGAATACG  
TTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTACGCCATGGGAGTCGGTAACACCCGAAAGCCTG  
TAGTCTAACCGCAAGGAGCAGCAGTCCGAGGTGGGATTGATGACTGGGGTGAAGTCGTA  
ACAGGGTAACCG

### HMI 46 Secuencia de ADNr 16S de Blautia producta (SEQ ID NO: 45)

TGGACAGATTCTTCGGATGAAGTCCTTAGTGACTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGT  
GGGTAACCTGCCTCATAACAGGGGATAACAGTTAGAAATGGCTGCTAATACCCGATAAGC  
GCACGGTACTGCATGGTACAGTGTGAAAACCTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCGTTGG  
ATTAGCTAGTTGGCAGGGTAACGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAGCCGGCCTGAGAGG  
GTGGACGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG  
AATATTCACAATGGGGAAACCCTGATGCAGCGACCCGCGTGAGCGAAGAAGTATTTTC  
GGTATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGC  
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGG  
GTGTAAGGGGAGCGTAGACGGAATGGCAAGTCTGATGTGAAAGGCCGGGGCTCAACCCCG  
GGACTGCATTTGAAAACGTCAATCTAGAGTACCGGAGGGTAAGTGAATTCCTAGTGTA  
GCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACGGT  
AACTGACGTTGAGGCTCGAAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCA  
CGCCGTAACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCGACGAAACG  
CAATAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTCCGCAAGAATGAAAACCAAAGGAATTGACGGG  
GACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCAAGAACCCTTACCAA  
ATCTTGACATCGATCTGACCGGACTGTAATGAGTCCTTTCCCTTCGGGGACAGAGAAGAC  
AGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGA  
GCGCAACCCTTATCCTCAGTAGCCAGCAAGTGAAGTTGGGCACTCTGTGGAGACTGCCAG  
GGATAACCTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCT  
ACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAAGGGAAGCGATCACGCGAGTGTGAGCAAATCTC  
5 AAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGC  
TAGTAATCGCAGGTCAGCATACTCCGGTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCGCCC  
GTCACACCATGGGAGTCAGTAAACACCCGAAAGCCGGTACCTAACCGAAAGGAAGGAGCCG  
TCGAAGGTGGGACCGATAACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI 47 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium nexile (SEQ ID NO: 46)

## ES 2 987 655 T7

GTTTGTGACTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGTAACTGCCTTATACAGGGG  
ATAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTCTCGCATGGGACAGTGT  
GAAAACTAAGGTGGTATAAGATGGACCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAG  
CCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACATTGGGACTGAG  
ACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCC  
TGATGCAGCAACGCCCGGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGG  
GAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCTCCGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCCGGT  
AATACGTATGGAGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGCGGTTA  
TGCAAGTCAGATGTGAAAGCCCGGGCTTAACCCCGGACTGCATTTGAACTGTGTAAC  
TAGAGTGTGCGAGAGGTAAGTGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGG  
AGGAACACCAAGTGGCGAAGCGGCTTACTGGACGATAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCG  
TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGT  
GTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTGCCCGCAGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGT  
ACGTTTCGCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATG  
TGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGTCTTGACATCTGGATGACCGGAC  
CGTAATGGGTCCTTTCCTTCGGGACATCCAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCCTCAGCTC  
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTATCCTTAGTAGCCAG  
CAGTAAGATGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGAGACAATCCGGAGGAAGGTGGGGATGAC  
GTCAAATCATCATGCCCTTATGACTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGTAAACAAA  
GGGAAGCGAGACCGGAGGTTAAGCAAATCTCAAAAATAACGTCTCAGTTCGGATTGTAG  
TCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGCATCTCGCGGT  
GAATACGTTCCCGGTCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTCGATAACGCCCG  
AAGCCGGTGACTCAACCGAAAGGAGAGCCGTGGAAGCGGGATGGATAACTGGGGTGA  
AGTCGTAAC

### HMI 48 Secuencia de ADNr 16S de *Butyricoccus pullicaecorum* (SEQ ID NO: 47)

5

ATCTCTTCGGAGATGGAATTCCTAACCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGCAAT  
CTGCCTTTAGGAGGGGATAACAGTCGGAACCGCTGCTAATACCGCATAATACGTTTGG  
GAGGCATCTCTTGAACGTCAAAGATTTTATCGCCTTTAGATGAGCTCGCGTCTGATTAGC  
TGTTTGGCGGGTAAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGAAC  
GGCCACATTTGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATT  
GCGCAATGGGGGAAACCTGACGCAGCAACGCCCGGTGATTGAAGAAGGCCTTCGGGTTG  
TAAAGATCTTTAATCAGGGACGAAAATGACGGTACCTGAAGAATAAGCTCCGGCTAACT  
ACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGAGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTA

## ES 2 987 655 T7

AAGGGCGCGCAGGCCGGCCGGCAAGTTGGGAGTGAAATCCCGGGGCTTAACCCCGGAACT  
GCTTTCAAAAGTGTGGTCTTGTAGTGATGGAGAGGCAGGCAGGAATCCCGTGTGTAGCGGT  
GAAATGCGTAGATATACGGAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCCTGCTGGACATTAAC TG  
ACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCG  
TAAACGATGGATACTAGGTGTGGGAGGTATTGACCCCTTCCGTGCCGCAGTTAACACAAT  
AAGTATCCCACCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC  
CGCACAAAGCAGTGGAGTATGTGGTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCT  
TGACATCCCAGTACCGGGCGTAGAGATACGCCCTCTCTTCGGAGCATCGGTGACAGGTGG  
TGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA  
CCCTTACGGTTAGTTGATACGCAAGATCACTCTAGCCGGACTGCCGTTGACAAAACGGAG  
GAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTACTAC  
AATGGCAGTCATACAGAGGGAAGCAATACCGCGAGGTGGAGCAAATCCCTAAAAGCTGTC  
CCAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACCCGCCTGCATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCGG  
ATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGA  
GAGCCGTCAATACCCGAAGTCCGTAGCCTAACCGCAAGGGGGCGCGGCCGAAGGTAGGG  
GTGGTAATTAGGGTGAAGTCGTAC

### HMI 49 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus flavefaciens (SEQ ID NO: 48)

AGTCGACGGACGAGGAGGAGCTTGTCTCCGAGTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACG  
TGAGCAACCTACCCTTGAGAGGGGATAGCTTCTGGAAACGGATGGTAATACCCATAAC  
ATATATTTTAGGCATCTAAGATATATCAAAGAAATTCGCTCAAGGATGGGCTCGCGTCTG  
ATTAGATAGTTGGTGAAGTAAACGGCCCAAGTCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGG  
TTGAACGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG  
AATATTGCACAATGGGGGAACCTGATGCAGCGATGCCGCTGGAGGAAGAAGGTTTTTC  
GGATTGTAACTCCTTTTAAACAGGGACGATAATGACGGTACCTGAAGAAAAGCTCCGGC  
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGAGCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGG  
GTGTAAAGGGAGCGTAGGCGGGACGGTAAGTCAGGTGTGAAATATACGTGCTCAACATGT  
AGACTGCACTTGAAACTGCTGTTCTTGAGTGAAGTAGAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTA  
GCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACATCGGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGGCTTT  
TACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA  
CGCTGTAAACGATGATTACTAGTGTGGGGGACTGACCCCTTCCGTGCCGCAGTTAACA  
CAATAAGTAATCCACCTGGGAGTACGACC GCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG  
GGCCCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGGTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAG  
GTCTTGACATCGTATGCATAGTCTAGAGATAGATGAAATCCCTTCGGGGACATATAGACA  
GGTGGTGCATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG  
CGCAACCTTACCTTTAGTTGTCTACGCAAGAGCACCTTAGAGGGACTGCCGTTGACAAAA  
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT  
ACTACAATGGCAATTAACAGAGGGAAGCAAACAGCGATGTGGAGCAAATCCCGAAAAAT  
TGTCCCAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATC  
5 GCAGATCAGAATGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACC  
ATGGGAGTCGGTAACCCGAAGCCTGTAGTCTAACCTTATAGGAGGACGCAGTCGAAGG  
TGGGATTGATGACTGGGGTGAAGTCGT

### HMI 50 Secuencia de ADNr 16S de Clostridium orbiscindens (SEQ ID NO: 49)

AAAGGGAATGCTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAGTAACCTGCCTTGGAGTGGG  
 GAATAACAGCCGGAACCGCTGCTAATACCGCATGATGTATCTGGATCGCATGGTTCTGG  
 ATACCAAAGATTTATCGCTCTGAGATGGACTCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAA  
 CGGCTCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGACTGAGAGGTTGGCCGGCCACATTGGGACT  
 GAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGGCAATGGGCGAAA  
 GCCTGACCCAGCAACGCCGCTGAAGGAAGAAGGCCCTCGGGTTGTAAACTTCTTTTGT  
 AGGGACGAAGCAAGTGACGGTACCTGACGAATAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC  
 CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGCGTGTAGG  
 CGGGAGTGCAAGTCAGATGTGAAAACCTATGGGCTCAACCCATAGCCTGCATTTGAAACTG  
 TACTTCTTGTAGTGTGAGAGGCAGGCCGAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT  
 ATAGGGAGGAACACCACTGGCGAAGGGCCCTGCTGGACATTAAGTACGCTGAGCGCCG  
 AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGGATA  
 CTAGGTGTGGGGGCTGACCCCTCCGTGCCGAGTTAACACAATAAGTATCCCACCTG  
 GGGAGTACGATCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAAGCGGTGG  
 AGTATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGACTTGACATCCTACTAA  
 CGAAGCAGAGATGCATAAGGTGCCCTTCGGGGAAAGTAGAGACAGGTGGTGCATGGTTGT  
 CGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTT  
 AGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGCGAGACTGCCGTTGACAAAACGGAGGAAGGTGGGGA  
 CGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTGGGCCACACAGTACTACAATGGCGGTCA  
 ACAGAGGGAAGCAAAGCCCGGAGGTGGAGCAAATCCCTAAAAGCCGTCCCAGTTCGGATT  
 GCAGGCTGAAACTCGCTGTATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCG  
 CGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTCGGGAACA  
 CCCGAAGTCCGTAGCCTAACAGCAATGGG

**HMI 51 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus bromii (SEQ ID NO: 50)**

ACGAAGCTTTGAGGAGCTTGCTTTTTAAGCTTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGAG  
 CAACCTGCCTCTCAGAGGGGAATAACGTTTTGAAAAGAACGCTAATACCGCATAACATAT  
 CGGAACCGCATGATTTCTGATATCAAAGGAGCAATCCGCTGAGAGATGGGCTCGCGTCCGA  
 TTAGTTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGACTACGATCGGTAGCCGGACTGAGAGGT  
 TGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGG  
 ATATTGCGCAATGGGGAAACCTGACGCAGCAACGCCGCTGAAGGAAGAAGTCTTCCG  
 GATTGTAAACTTCTTTTGTGAGGACGAAGAAAGTACGGTACCTGACGAATAAGCTCCG  
 GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAATACGTAGGGAGCGAGCGTTGTCCGGATTTACT  
 GGGTGTAAAGGGTGCCTAGGCGGCCGAGCAAGTCAGTTGTGAAAACCTATGGGCTTAACCC  
 ATAACGTGCAATTGAAACTGTCCGGCTTGTAGTGAAGTAGAGGTAGGCGGAATTCCTGGTG

## ES 2 987 655 T7

TAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAAACACCAGTGGCGAAGGCGGCCTACTGGGCT  
TTAACTGACGCTGAGGCACGAAAGCATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC  
CATGCCGTAAACGATGATTACTAGGTGTGGGGGACTGACCCCTTCCGTGCCGAGTTAA  
CACAATAAGTAATCCACCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG  
GGGGCCCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGGTTTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCTTACC  
AGGTCTTGACATCCTGAGAATCCTTAAGAGATTAGGGAGTGCCTTCGGGAACCTCAGAGAC  
AGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGA  
GCGCAACCCTTGCTATTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAATAGGACTGCCGTTGACAAA  
ACGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACG  
TACTACAATGGCCATTAACAGAGGGAAGCAAAACCGCGAGGCAGAGCAAACCCCTAAAAA  
TGGTCCCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACCCGCCTACATGAAGTTGGAATTGCTAGTAAT  
CGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACAC  
CATGGGAGCCGTAATACCCGAAGTCAGTAGTCTAACAGCAATGAGGACGCTGCCGAAGG  
TAGGATTGGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAACCG

### HMI\_52 Secuencia de ADNr 16S de Ruminococcus albus 926R (SEQ ID NO: 51)

AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCACGCTTAACACATGCAAGTCGAAC  
GAGAGAAGAGAAGCTTGCTTTTCTGATCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGAGCAA  
TCTGCCTTTAGAGGGGATACCGATTGGAAACGATCGTTAATACCGCATAACATAATTG  
AACCGCATGATTTGATTATCAAAGATTTATCGCTGAAAGATGAGCTCGCGTCTGATTAGC  
TAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGACTGAGAGGTTGATC  
GGCCACATTTGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATT  
GCACAATGGAGGAACTCTGATGACGCGATGCCGCTGAGGGAAGAAGGTTTTAGGATTG  
TAAACCTCTGTCTCAGGGACGAAAAAAGACGGTACCTGAGGAGGAAGCTCCGGCTAA  
CTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGGAGCGAGCGTTGTCCGGAATTACTGGGTG  
TAAAGGGAGCGTAGCGGGATCGCAAGTCAGATGTGAAAATCTTGGGCTTAACCCATAAA  
CTGCATTTGAAACTGTGGTTCTTGAGTGAAGTAGAGGTAAGCGGAATCCTAGTGTAGCG  
GTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACATCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGGCTTTAAC  
TGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGC  
CGTAAACGATGATTACTAGGTGTGGGGGACTGACCCCTTCCGTGCCGAGCAAACGCAA  
TAAGTAATCCACCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC  
CCGCACAAGCAGTGGAGTATGTGGATTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTC  
TTGACATCGTATGCATAGCTCAGAGATGAGTGAATCTCTTCGGAGACATATAGACAGGT  
GGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC  
AACCCCTTACTGTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAGCAGGACTGCCGTTGACAAAACGG  
AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCCTCACACGTA  
ACAATGGCTGTCAACAGAGGGATGCAAAGCCGCGAGGTGGAGCGAACCCCTAAAAGCAGT  
CTTAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACCCGCCTACATGAAGTCGGAATTGCTAGTAATCGCA  
GATCAGCATGCTGCCGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACGCCATG  
5 GGAGTCGGTAACACCCGAAGCCTGTAGTCTAACCGCAAGGAGGACGCAGTCGAAGGTGGG  
ATTGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCG

**Referencias**

- Abecasis, A. B., M. Serrano, R. Alves, L. Quintais, J. B. Pereira-Leal y A. O. Henriques (2013). "A genomic signature and the identification of new sporulation genes." *J Bacteriol* 195(9): 2101-2115.
- 5 Abujamel, T y cols. (2013). "Defining the Vulnerable Period for Re-Establishment of *Clostridium difficile* Colonization after Treatment of *C. difficile* Infection with Oral Vancomycin or Metronidazole." *PLoS ONE* 8(10): e76269.
- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers and D. J. Lipman (1990). "Basic local alignment search tool." *Journal of Molecular Biology* 215(3): 403-410.
- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers y D. J. Lipman (1990). "Basic local alignment search tool." *J Mol Biol* 215(3): 403-410.
- 10 Angriman, 1., M. Scarpa y I. Castagliuolo (2014). "Relationship between pouch microbiota and pouchitis following restorative proctocolectomy for ulcerative colitis." *World J Gastroenterol* 20(29): 9665-9674.
- Atarashi, K., T. Tanoue, K. Oshima, W. Suda, Y. Nagano, H. Nishikawa, S. Fukuda, T. Saito, S. Narushima, K. Hase, S. Kim, J. V. Fritz, P. Wilmes, S. Ueha, K. Matsushima, H. Ohno, B. Ollé, S. Sakaguchi, T. Taniguchi, H. Morita, M. Hattori y K. Honda (2013). "T<sub>reg</sub> induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota". *Nature* 500(7461): 232-236.
- 15 Blanton, L. V., M. R. Charbonneau, T. Salih, M. J. Barratt, S. Venkatesh, O. Ilkaveya, S. Subramanian, M. J. Manary, I. Trehan, J. M. Jorgensen, Y. M. Fan, B. Henrissat, S. A. Leyn, D. A. Rodionov, A. L. Osterman, K. M. Maleta, C. B. Newgard, P. Ashorn, K. G. Dewey y J. I. Gordon (2016). "Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children." *Science* 351 (6275).
- 20 Bajaj, J. S. (2014). "The role of microbiota in hepatic encephalopathy." *Gut Microbes* 5(3): 397-403.
- Bajaj, J. S., P. B. Hylemon y Z. Younossi (2012). "The intestinal microbiota and liver disease." *Am J Gastroenterol. Supl.* 1:9-14
- Bosshard, P. P., S. Abels, R. Zbinden, E. C. Bottger y M. Altwegg (2003). "Ribosomal DNA sequencing for identification of aerobic gram-positive rods in the clinical laboratory (an 18-month evaluation)." *J Clin Microbiol* 41 (9): 4134-4140.
- 25 Britton, R. A. y V. B. Young (2014). "Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by *Clostridium difficile*." *Gastroenterology* 146(6): 1547-1553.
- Buffie, C. G. y cols. (2015). "Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*." *Nature* 517(7533): 205-208.
- 30 Chakraborty, A., S. Ghosh, G. Chowdhary, U. Maulik y S. Chakrabarti (2012). "DBETH: a Database of Bacterial Exotoxins for Human." *Nucleic Acids Res* 40 (problema con la base de datos)D615620.
- Clarridge, J. E., 3rd (2004). "Impact of ARNs 16S gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases." *Clin Microbiol Rev* 17(4): 840-862, índice.
- Cole, J. R., y cols. (2014). "Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis." *Nucleic Acids Research* 42(D1): D633-D642.
- 35 Collins, S. M. (2014). "A role for the gut microbiota in IBS." *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 11 497-505.
- Comely, O. A., M. A. Miller, T. J. Louie, D. W. Crook y S. L. Gorbach (2012). "Treatment of First Recurrence of *Clostridium difficile* Infection: Fidaxomicin Versus Vancomycin." *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 55(Supl 2): S154-S161.
- 40 Domínguez-Bello, M. G., E. K. Costello, M. Contreras, M. Magris, G. Hidalgo, N. Fierer y R. Knight (2010). "Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns." *Proc Natl Acad Sci U S A* 107 (26): 11971-11975.
- Duncan, S. H., G. L. Hold, H. J. Harmsen, C. S. Stewart y H. J. Flint (2002). "Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov." *Int J Syst Evol Microbiol* 52(Pt 6): 2141-2146.
- 45 Eckburg, P. B., E. M. Bik, C. N. Bernstein, E. Purdom, L. Dethlefsen, M. Sargent, S. R. Gill, K. E. Nelson y D. A. Relman (2005). "Diversity of the human intestinal microbial flora." *Science* 308(5728): 1635-1638.
- Fodor, A. A., T. Z. Desantis, K. M. Wylie, J. H. Badger, Y. Ye, T. Hepburn, P. Hu, E. Sodergren, K. Liolios, H. Huot-Creasy, B. W. Birren y A. M. Earl (2012). "The "most wanted" taxa from the human microbiome for whole genome sequencing." *PLOS One* 7(7): e41294.

- Forster, S. C., H. P. Browne, N. Kumar, M. Hunt, H. Denise, A. Mitchell, R. D. Finn y T. D. Lawley (2015). "HPMCD: the database of human microbial communities from metagenomic datasets and microbial reference genomes." *Nucleic Acids Res.*
- 5 Francis, M. B., C. A. Allen, R. Shrestha y J. A. Sorg (2013). "Bile acid recognition by the *Clostridium difficile* germinant receptor, CspC, is important for establishing infection." *PLOS Pathog* 9(5): e1003356.
- Galperin, M. Y., S. L. Mekhedov, P. Puigbo, S. Smirnov, Y. I. Wolf y D. J. Rigden (2012). "Genomic determinants of sporulation in Bacilli and Clostridia: towards the minimal set of sporulation-specific genes." *Environ Microbiol* 14(11): 2870-2890.
- 10 Goodman, A. L., G. Kallstrom, J. J. Faith, A. Reyes, A. Moore, G. Dantas y J. I. Gordon (2011). "Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice." *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(15): 6252-6257.
- Hattori, M. y T. D. Taylor (2009). "The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology." *DNA Res* 16(1): 1-12.
- 15 Hold, G. L., M. Smith, C. Grange, E. R. Watt, E. M. El-Omar e I. Mukhopadhyaya (2014). "Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: what have we learnt in the past 10 years?" *World J Gastroenterol* 20(5): 1192-1210.
- Hooper, L. V., D. R. Littman y A. J. Macpherson (2012). "Interactions between the microbiota and the immune system." *Science* 336(6086): 1268-1273.
- 20 Hooper, L. V., M. H. Wong, A. Thelin, L. Hanson, P. G. Falk y J. I. Gordon (2001). "Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine." *Science* 291 (5505): 881-884.
- Huse, S. M., L. Dethlefsen, J. A. Huber, D. M. Welch, D. A. Reiman y M. L. sogin (2008). "Exploring Microbial Diversity and Taxonomy Using SSU rRNA Hypervariable Tag Sequencing." *PLoS Genet* 4(11): e1000255.
- 25 Janoir, C., C. Deneve, S. Bouttier, F. Barbut, S. Hoys, L. Caleechum, D. Chapeton-Montes, F. C. Pereira, A. O. Henriques, A. Collignon, M. Monot y B. Dupuy (2013). "Adaptive strategies and pathogenesis of *Clostridium difficile* from in vivo transcriptomics." *Infect Immun* 81(10): 3757-3769.
- Johnson, M., I. Zaretskaya, Y. Raytselis, Y. Merezhuik, S. McGinnis y T. L. Madden (2008). "NCBI BLAST: a better web interface." *Nucleic Acids Research* 36(problema con el servidor de Internet): W5-W9.
- Jostins, L., y cols. (2012). "Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease." *Nature* 491 (7422): 119-124.
- 30 Koenig, J. E., y cols. (2011). "Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome." *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 suppl 1: 4578-4585.
- Kozich, J. J., S. L. Westcott, N. T. Baxter, S. K. Highlander y P. D. Schloss (2013). "Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform." *Appl Environ Microbiol* 79(17): 5112-5120.
- 35 Lagier, J. C., P. Hugon, S. Khelaifia, P. E. Fournier, B. La Scola y D. Raoult (2015). "The Rebirth of Culture in Microbiology through the Example of Culturomics To Study Human Gut Microbiota." *Clin Microbiol Rev* 28(1): 237-264.
- Landy, J., H. O. Al-Hassi, S. D. McLaughlin, A. W. Walker, P. J. Ciciitira, R. J. Nicholls, S. K. Clark y A. L. Hart (2011). "Review article: faecal transplantation therapy for gastrointestinal disease." *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 34(4): 409-415.
- 40 Lawley, T. D., y cols. (2009). "Antibiotic treatment of *Clostridium difficile* carrier mice triggers a supershedder state, spore-mediated transmission, and severe disease in immunocompromised hosts." *Infect Immun* 77(9): 3661-3669.
- Lawley, T. D., y cols. (2012). "Targeted restoration of the intestinal microbiota with a simple, defined bacteriotherapy resolves relapsing *Clostridium difficile* disease in mice." *PLoS Pathog* 8(10): e1002995.
- Lawley, T. D. y A. W. Walker (2013). "Intestinal colonization resistance." *Immunology* 138(1): 1-11.
- 45 Letunic, I. y P. Bork (2011). "Interactive Tree Of Life v2: online annotation and display of phylogenetic trees made easy." *Nucleic Acids Res* 39(problema del servido de Internet): W475-478.
- Louis, P y H. J. Flint (2009). "Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine." *FEMS Microbiol. Lett.* 294(1): 1-8.

- Lozupone, C. y R. Knight (2005). "UniFrac: a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities." *Applied and Environmental Microbiology* 71 (12): 8228-8235.
- Ludwig, W., y cols. (2004). "ARB: a software environment for sequence data." *Nucleic Acids Res* 32(4): 1363-1371.
- 5 McArthur, A. G. y cols. (2013). "The comprehensive antibiotic resistance database." *Antimicrob Agents Chemother* 57(7): 3348-3357.
- Meehan, C. J. y R. G. Beiko (2014). "A phylogenomic view of ecological specialization in the Lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria." *Genome Biol Evol* 6(3): 703-713.
- Nielsen, H. B., y cols. (2014). "Identification and assembly of genomes and genetic elements in complex metagenomic samples without using reference genomes." *Nat Biotechnol* 32(8): 822-828.
- 10 Ottman, N., H. Smidt, W. M. de Vos y C. Belzer (2012). "The function of our microbiota: who is out there and what do they do?" *Front Cell Infect Microbiol* 2: 104.
- Pérez Martínez, G., C. Bauert y M. C. Collado (2014). "Understanding gut microbiota in elderly's health will enable intervention through probiotics." *Benef Microbes* 5(3): 235-246. Petrof, E. O., G. B. Gloor, S. J. Vanner, S. J. Weese, D. Carter, M. C. Daigneault, E. M.
- 15 Brown, K. Schroeter y E. Allen-Vercoe (2013). "Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'RePOOPulating' the gut." *Microbiome* 1 (1): 3.
- Price, M. N., P. S. Dehal y A. P. Arkin (2010). "FastTree 2--approximately maximum-likelihood trees for large alignments." *PLoS One* 5(3): e9490.
- 20 Pruesse, E., C. Quast, K. Knittel, B. M. Fuchs, W. Ludwig, J. Peplies y F. O. Glöckner (2007). "SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB." *Nucleic acids research* 35(21): 7188-7196.
- Qin, J., y cols. (2010). "A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing." *Nature* 464(7285): 59-65.
- 25 Quince, C., A. Lanzen, R. Davenport y P. Turnbaugh (2011). "Removing Noise From Pyrosequenced Amplicons." *BMC Bioinformatics* 12(1): 38.
- Rajilic-Stojanovic, M. y W. M. de Vos (2014). "The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota." *FEMS Microbiol Rev* 38(5): 996-1047.
- Riley, T. V., J. S. Brazier, H. Hassan, K. Williams y K. D. Phillips (1987). "Comparison of alcohol shock enrichment and selective enrichment for the isolation of *Clostridium difficile*." *Epidemiol Infect* 99(2): 355-359.
- 30 Scheperjans, F., y cols. (2015). "Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype." *Mov Disord* 30(3): 350-358.
- Schloss, P. D., D. Gevers y S. L. Westcott (2011). "Reducing the Effects of PCR Amplification and Sequencing Artifacts on ARNs 16S-Based Studies." *PLOS ONE* 6(12): e27310.
- 35 Schloss, P. D., y cols. (2009). "Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities." *Applied and Environmental Microbiology* 75(23): 7537-7541.
- Schloss, P. D., y cols. (2009). "Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities." *Appl Environ Microbiol* 75(23): 7537-7541.
- 40 Sekirov, I., S. L. Russell, L. C. Antunes y B. B. Finlay (2010). "Gut microbiota in health and disease." *Physiol Rev* 90(3): 859-904.
- Snyder, A (2014). "Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma". *N Engl J Med*. 371(23):2189-99.
- 45 Stewart, E. J. (2012). "Growing unculturable bacteria." *J Bacteriol* 194(16): 4151-4160. van Nood, E., A. Vrieze, M. Nieuwdorp, S. Fuentes, E. G. Zoetendal, W. M. de vos, C. E. Visser, E. J. Kuijper, J. F. Bartelsman, J. G. Tijssen, P. Speelman, M. G. Dijkgraaf y J. J. Keller (2013). "Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*." *N Engl J Med* 368(5): 407-415.
- Wang, Q., G. M. Garrity, J. M. Tiedje y J. R. Cole (2007). "Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy." *Appl Environ Microbiol* 73(16): 5261-5267.

Xu y cols. (2015). "Fecal microbiota transplantation broadening its application beyond intestinal disorders". *World J Gastroenterol.* 21 (1): 102-111.

Ze, X., F. Le Mougén, S. H. Duncan, P. Louis y H. J. Flint (2013). "Some are more equal than others: the role of "keystone" species in the degradation of recalcitrant substrates." *Gut Microbes* 4(3): 236-240

## REIVINDICACIONES

1. Una composición terapéutica que comprende al menos una bacteria aislada y un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde la bacteria comprende un gen que codifica un ARN ribosómico (rRNA) 16S y dicho gen comprende una secuencia con al menos 90% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 21, 22, 23, 29, 39, 41, 42; una secuencia con al menos 91% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID NOs 1, 6, 30, 47; una secuencia con al menos 92% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 11, 19, 36; una secuencia con al menos 93% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 15, 34, 35, 37, 38, 43, 44, 50; una secuencia con al menos 94% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 5, 13, 17, 18, 27, 40, 45, 46; una secuencia con al menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 7, 32, 33, 48, 51; una secuencia con al menos 96% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 12, 16, 20, 49; una secuencia con al menos 97% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 3, 8, 9, 10; una secuencia con al menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 2, 4, 31 o una secuencia con al menos 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en una cualquiera de SEQ ID Nos 14, 24, 25, 26, 28.
2. La composición terapéutica según la reivindicación 1, donde el gen que codifica el ARNs 16S comprende una secuencia con al menos 100% de identidad de secuencia con la secuencia indicada en cualquiera de SEQ ID NOs: 1 a 51.
3. La composición terapéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde la bacteria aislada es una bacteria depositada en the Leibniz-Institut DSMZ con el número de registro DSM32191, DSM32147, DSM32149, DSM32175, DSM32153, DSM32152, DSM32158, DSM32192, DSM32148, DSM32166, DSM32151, DSM32150, DSM32193, DSM32162, DSM32194, DSM32163, DSM32205, DSM32195, DSM32164, DSM32177, DSM32167, DSM32165, DSM32169, DSM32168, DSM32178, DSM32182, DSM32179, DSM32180, DSM32184, DSM32181, DSM32183, DSM32262, DSM32211, DSM32219, DSM32222, DSM32261, DSM32212, DSM32220, DSM32213, DSM32226, DSM32215, DSM32216, DSM32217, DSM32221, DSM32218, DSM32224, DSM32214, DSM32263, DSM32223, DSM32225 o DSM32265.
4. La composición terapéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la composición comprende al menos dos bacterias aisladas distintas, y donde las bacterias son como las definidas en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
5. La composición terapéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la composición es para el uso en el tratamiento de una disbiosis del tracto gastrointestinal en un individuo.
6. La composición terapéutica para el uso según la reivindicación 5, donde la disbiosis es una disbiosis asociada con una infección bacteriana entérica.
7. La composición terapéutica para el uso según la reivindicación 6, donde la infección bacteriana entérica es una infección con una bacteria patógena, por ejemplo del género *Clostridium*, tal como *Clostridium difficile*, *Escherichia*, tal como *E. coli*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Bacillus*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Plesiomonas* o *Yersinia*.
8. La composición terapéutica para el uso según la reivindicación 7, donde la bacteria patógena es resistente al tratamiento con uno o más antibióticos.
9. La composición terapéutica para el uso según la reivindicación 5, donde la disbiosis es una disbiosis asociada con enteropatía inflamatoria (IBD), tal como colitis ulcerativa (UC) o enfermedad de Crohn o reserovitis o síndrome del intestino irritable (IBS), una enfermedad metabólica, tal como síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus tipo 2, una cardiopatía, e hígado graso no alcohólico, un trastorno neuropsiquiátrico, tal como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, mioclonía-dístonía, autismo y síndrome de fatiga crónica, una enfermedad autoinmunitaria, tal como púrpura trombocitopénica idiopática, artritis, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico y tiroiditis de Hashimoto, un trastorno alérgico, tal como atopía, y asma, o un cáncer, tal como cáncer colorrectal, tumores extraintestinales, tumores mamarios, carcinoma hepatocelular, linfoma, melanoma, y cáncer de pulmón, o donde la disbiosis es una disbiosis asociada con encefalopatía hepática.
10. La composición terapéutica o la composición terapéutica para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la bacteria aislada es una bacteria esporulante.
11. La composición terapéutica o la composición terapéutica para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde al menos una de las bacterias en la composición es antagonista hacia una bacteria intestinal patógena, inhibe o previene el crecimiento de una bacteria intestinal patógena o neutraliza o protege contra una toxina producida por una bacteria intestinal.

12. La composición terapéutica o la composición terapéutica para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde al menos una de las bacterias en la composición tiene actividad inmunomoduladora.
13. La composición terapéutica o la composición terapéutica para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde la composición está en forma de cápsula, comprimido o enema.
- 5 14. Un método para preparar una composición terapéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el método comprende las etapas de:
- (i) cultivar una bacteria aislada como la indicada en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y
  - (ii) mezclar las bacterias obtenidas en (i) con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 15. Un método para preparar una composición terapéutica según 14, donde el método comprende las etapas de:
- (i) cultivar una primera bacteria aislada como la indicada en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4;
  - (ii) cultivar una segunda bacteria aislada como la indicada en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y
  - (iii) mezclar las bacterias obtenidas en (i) y (ii) con un excipiente farmacéuticamente aceptable, donde las bacterias cultivadas en las etapas (i) y (ii) tienen distintas secuencias de ARNr 16S, y
- 15 donde las etapas (i) y (ii) se realizan independientemente.

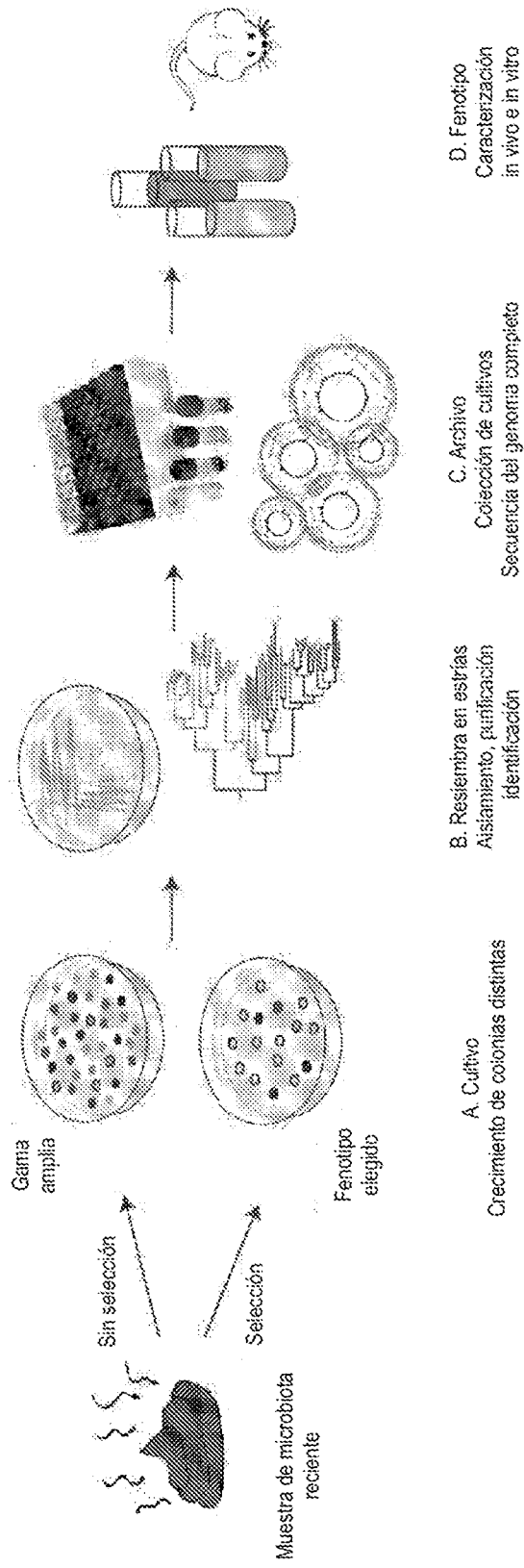


Figura 1

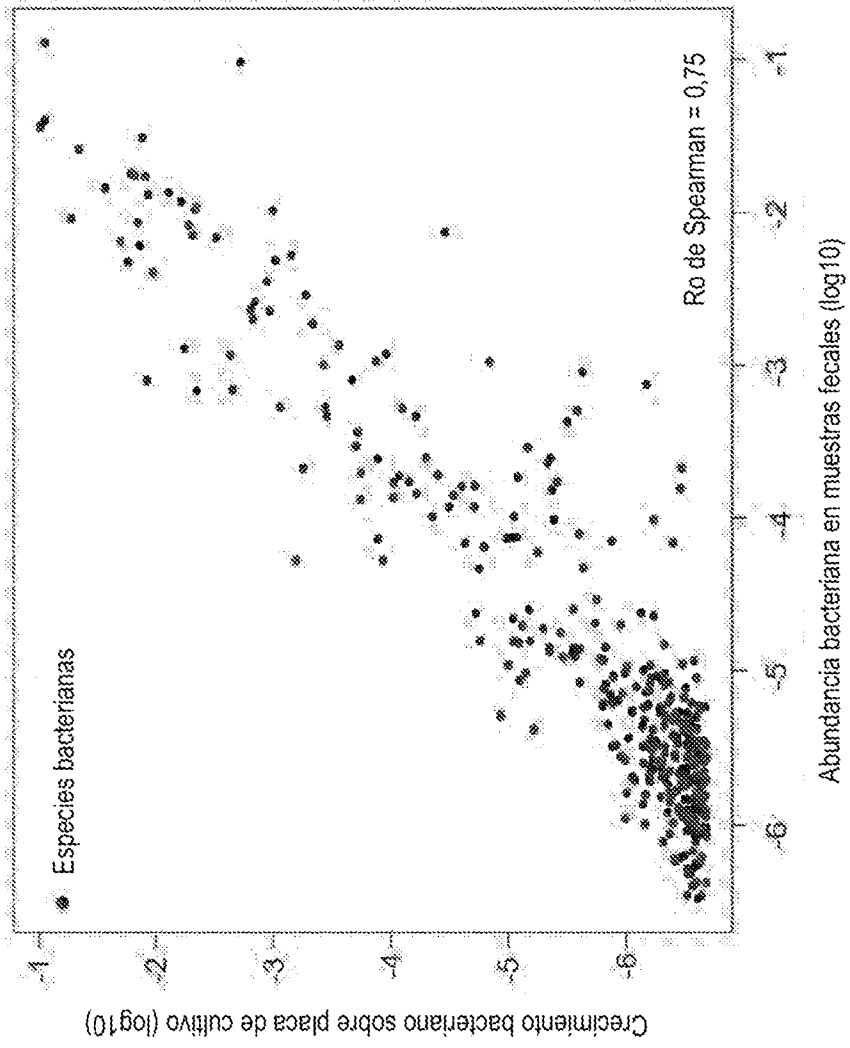


Figura 2

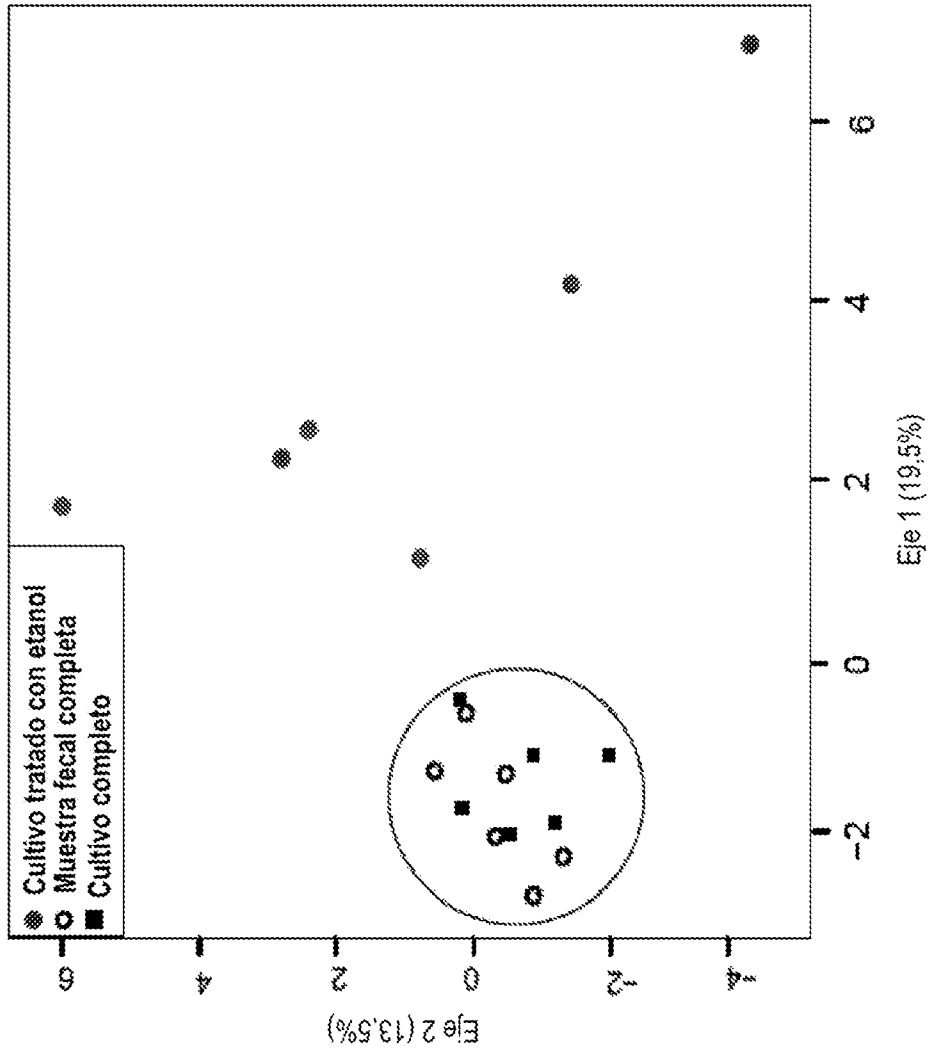


Figura 3



B

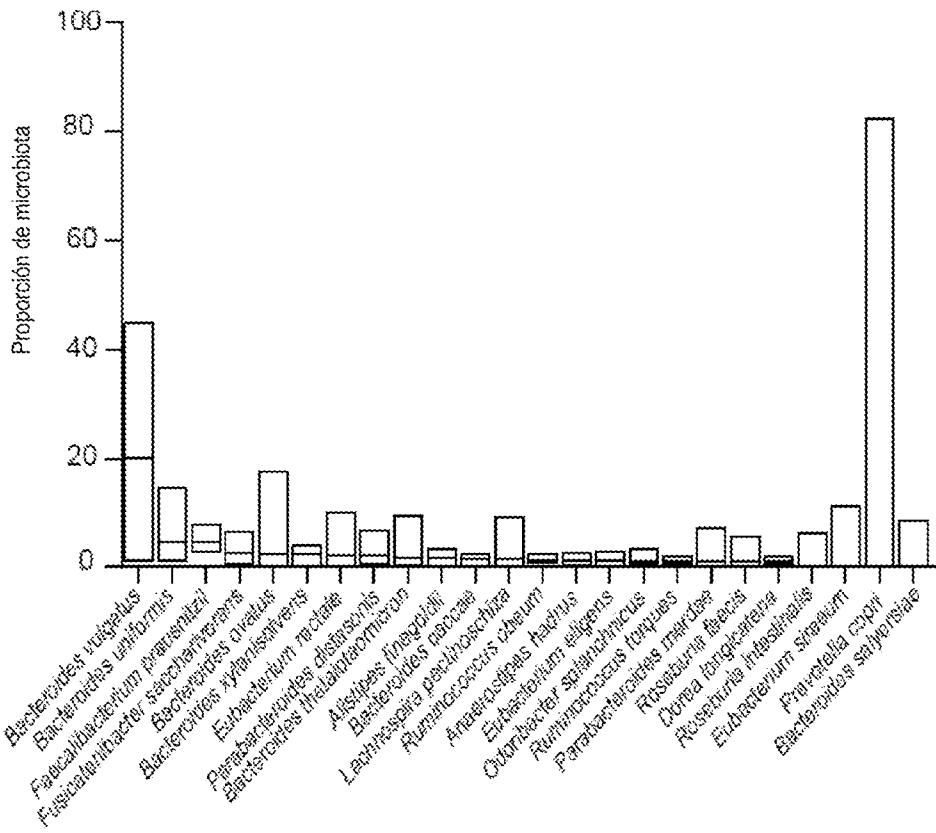


Figura 4 continuación

C

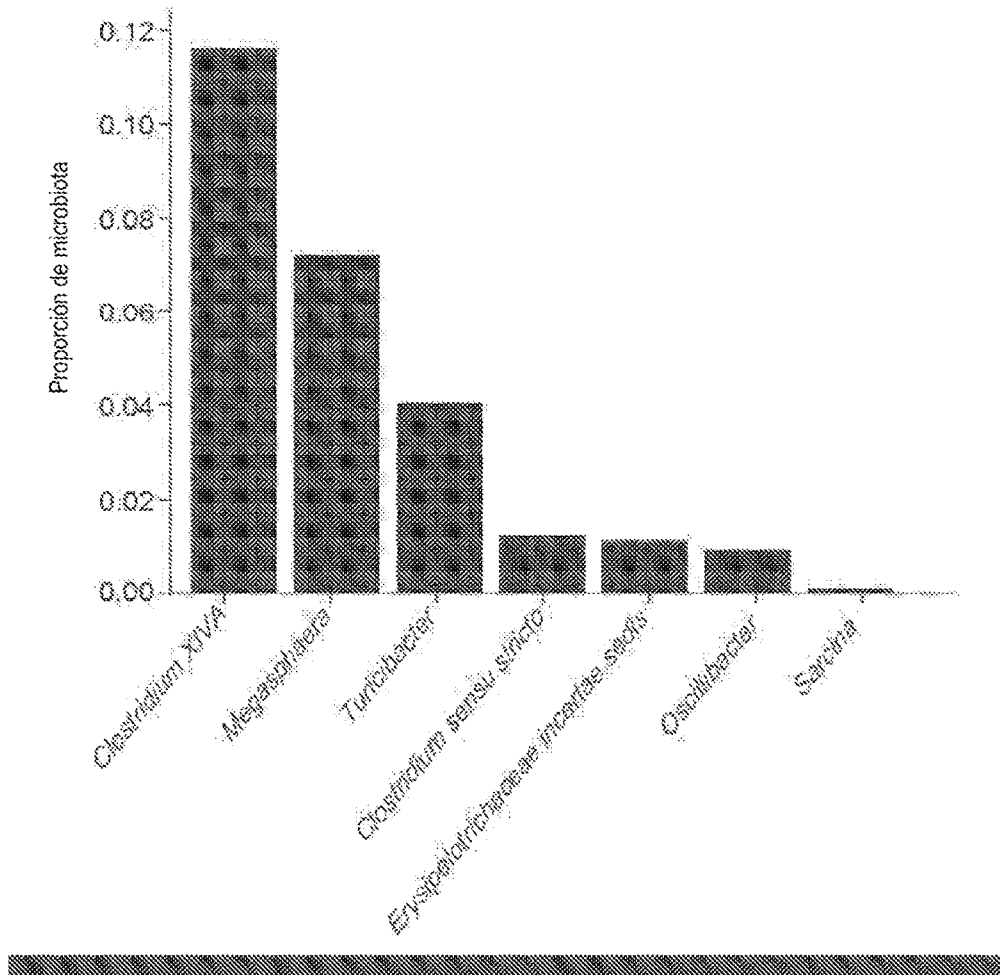


Figura 4 continuación



Figura 5

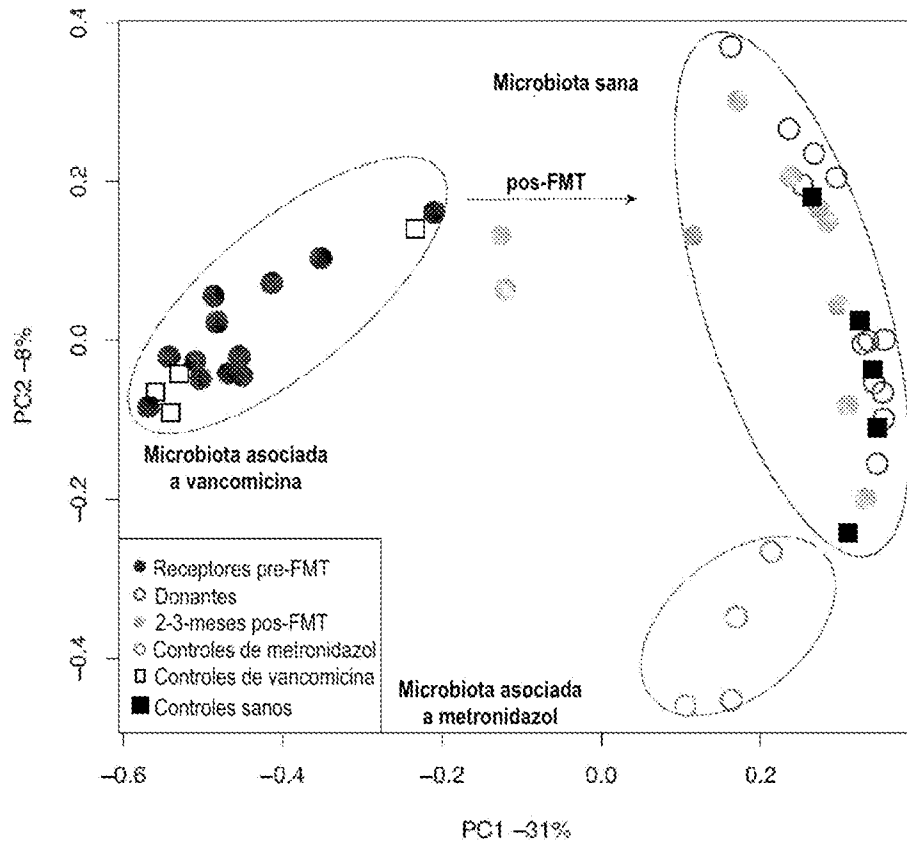


Figura 6

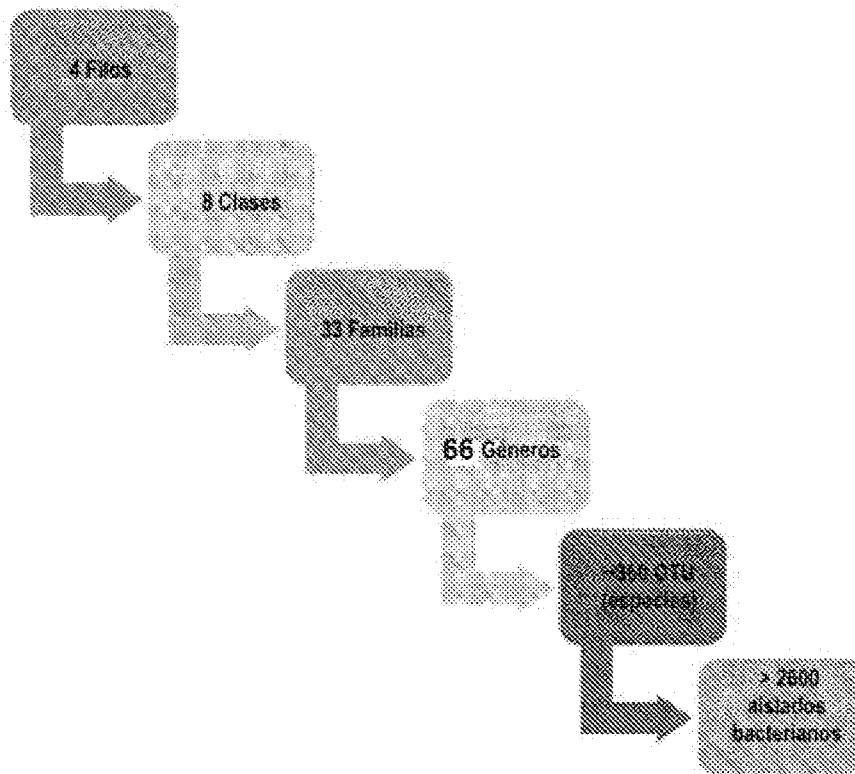


Figura 7

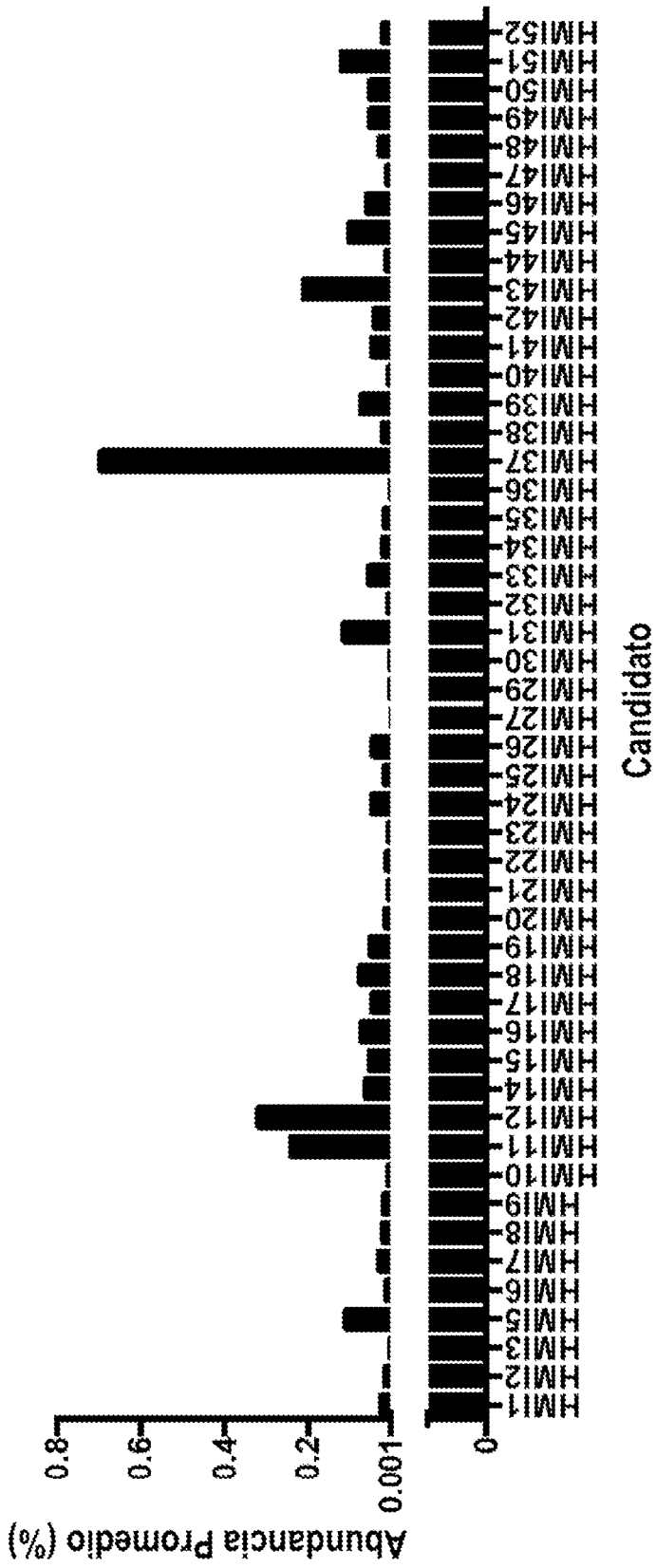


Figura 8



Figura 9

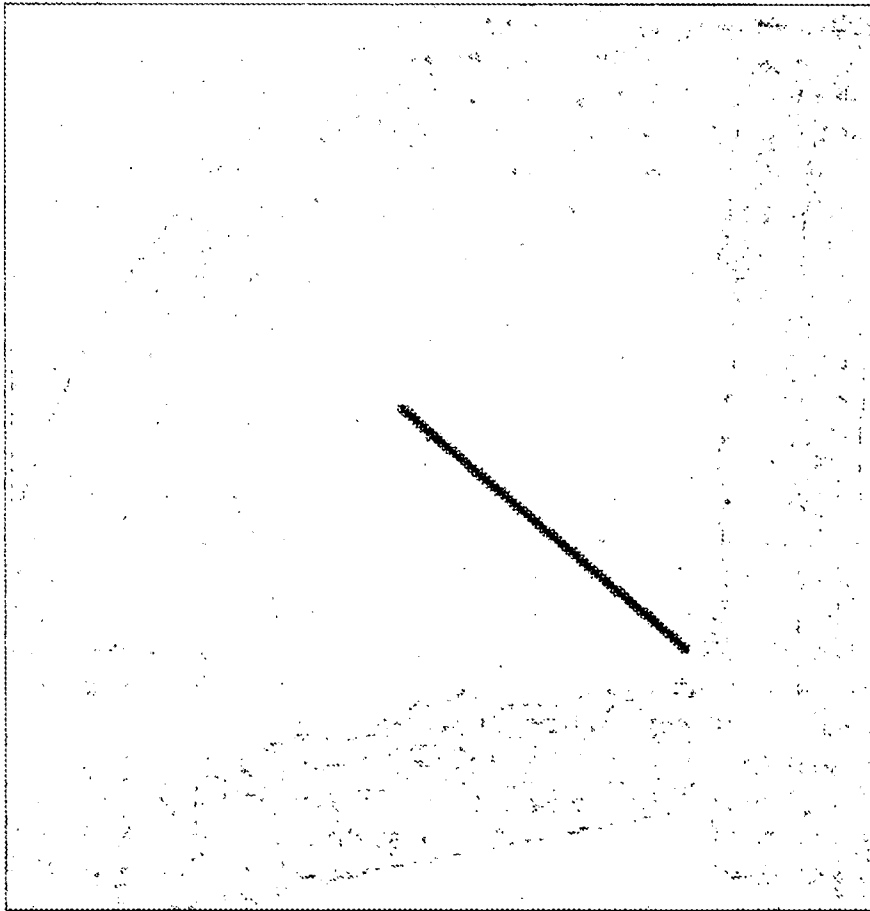
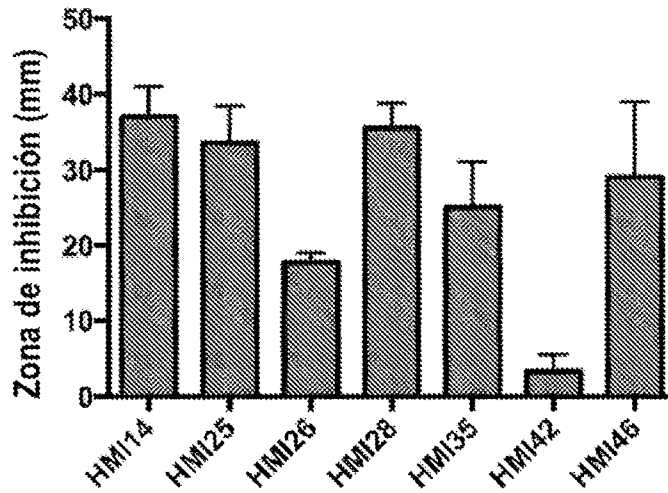


Figura 10

A

Candidatos de HMI frente a *C. difficile* M7404



B

Candidatos de HMI frente a *E. coli* (AIEC)

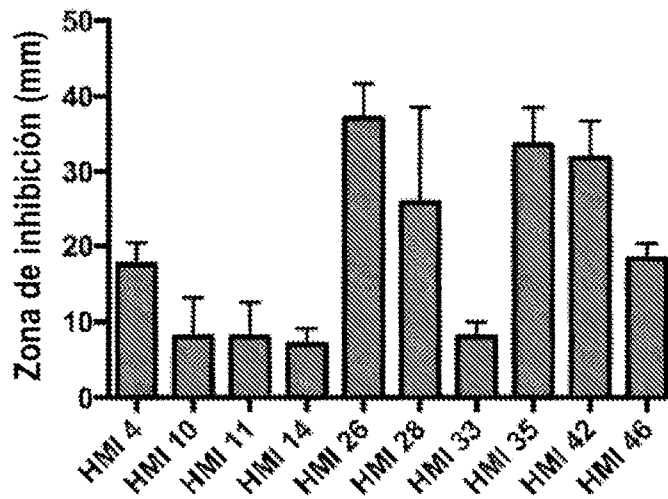


Figura 11

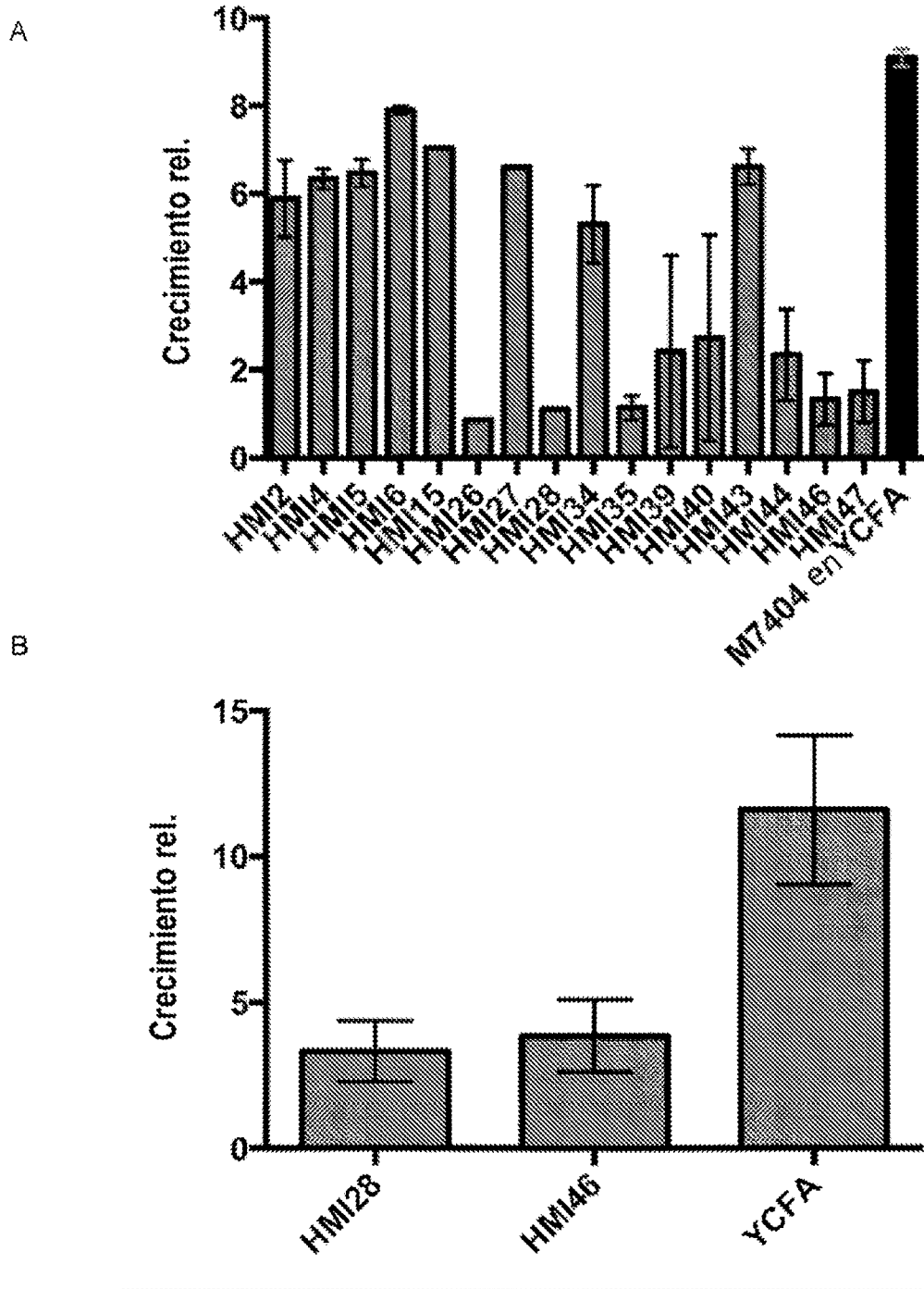


Figura 12



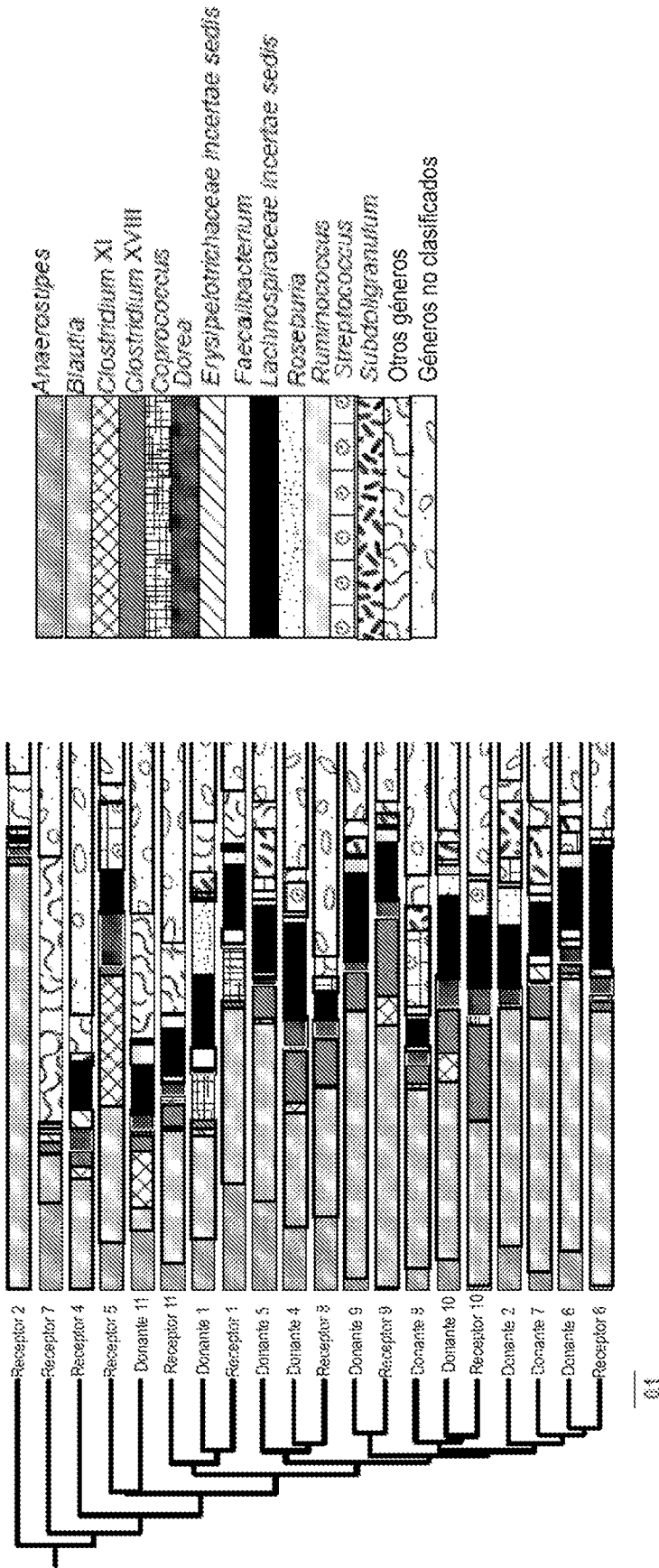


Figura 14