(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 971 415**

(51) Int. Cl.:

A61K 39/00	(2006.01)	***A61K 39/12***	(2006.01)	***A61P 43/00***	(2006.01)
A61K 39/02	(2006.01)	***G01N 33/48***	(2006.01)		
A61K 39/05	(2006.01)	***G01N 33/569***	(2006.01)		
A61K 39/085	(2006.01)	***A61P 1/00***	(2006.01)		
A61K 39/09	(2006.01)	***A61P 1/02***	(2006.01)		
A61K 39/095	(2006.01)	***A61P 1/04***	(2006.01)		
A61K 39/102	(2006.01)	***A61P 19/02***	(2006.01)		
A61K 39/104	(2006.01)	***A61P 29/00***	(2006.01)		
A61K 39/108	(2006.01)	***A61P 35/00***	(2006.01)		
A61K 39/112	(2006.01)	***A61P 37/04***	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.07.2011 E 17163849 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2023 EP 3235506**

(54) Título: **Composiciones antiinflamatorias inmunogénicas**

(30) Prioridad:

26.07.2010 US 843296
08.11.2010 US 411371 P
01.02.2011 US 201113019208
24.06.2011 US 201161500836 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.06.2024

(73) Titular/es:

QU BIOLOGICS INC. (100.0%)
305-4475 Wayburne Drive
Burnaby, BC V5G 4X4, CA

(72) Inventor/es:

GUNN, HAROLD DAVID y
DHANJI, SALIM

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones antiinflamatorias inmunogénicas

Campo de la invención

En diversos aspectos, la invención se refiere a terapias inmunológicas para tratar una enfermedad inflamatoria intestinal (EII) que es sintomática en una región de un tubo gastrointestinal (GIT).

Antecedentes de la invención

Más de una de cada tres personas en las naciones desarrolladas son diagnosticadas con cáncer. Más de una de cada cuatro muere de él. Las terapias para el cáncer se han basado principalmente en tratamientos tales como cirugía, quimioterapia y radiación. Estos enfoques, sin embargo, aunque son beneficiosos para algunos tipos y estadios de cáncer, han demostrado ser de eficacia limitada en muchos tipos y estadios comunes de cánceres. Por ejemplo, el tratamiento quirúrgico de un tumor requiere la eliminación completa de tejido canceroso para prevenir la remanifestación. Similarmente, la radioterapia requiere la destrucción completa de células cancerosas. Esto es difícil ya que, en teoría, una única célula maligna puede proliferar lo suficientemente para producir la remanifestación del cáncer. Por tanto, tanto el tratamiento quirúrgico como la radioterapia se dirigen a áreas localizadas de cáncer, y son relativamente ineficaces cuando el cáncer metastatiza. Frecuentemente, la cirugía o radiación o ambas se usan en combinación con enfoques sistémicos tales como quimioterapia. La quimioterapia, sin embargo, tiene el problema de la no selectividad con el problema concomitante de efectos secundarios perjudiciales, además de la posibilidad de que las células cancerosas desarrollen resistencia a los fármacos.

Las limitaciones inherentes de la quimioterapia han conducido a esfuerzos dispares para reclutar diversos aspectos del sistema inmunitario para tratar cánceres. Un subconjunto de este trabajo se refiere a la inmunización con vacunas microbianas. Aunque este enfoque tiene una historia relativamente larga, como se trata más abajo en más detalle, el campo es una mezcla muy confusa de éxitos algunas veces interesantes mezclados con muchos fallos que juntos han dejado de producir un enfoque terapéutico cohesivo susceptible a la generalizada adopción clínica.

Enfoques alternativos para el tratamiento de cánceres han incluido terapias que implican el aumento de la función del sistema inmunitario tal como terapia con citocinas (para, por ejemplo, interleucina 2 recombinante e interferón gamma para cánceres de riñón), terapia de células dendríticas, terapia de vacuna para tumor autólogo, terapia de vacuna genéticamente alterada, terapia de linfocitos y terapias de vacunas microbianas, creyéndose que la última compromete al sistema del hospedador de una manera no específica. Se han usado vacunas microbianas para vacunar sujetos contra patógenos que están asociados al cáncer, tales como el virus del papiloma humano. Las vacunas microbianas inmunoestimulantes que no son dirigidas a organismos causantes del cáncer, es decir, vacunas inmunoestimulantes no específicas, tales como vacunas pirogénicas, tienen una larga historia clínica que incluye informes de éxitos y fracasos en el tratamiento de varios cánceres. Por ejemplo, se ha informado que la vacuna de Coley (una combinación de *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens*) es útil para el tratamiento de sarcomas y linfomas (véase, por ejemplo, Nauts HC, Fowler GAA, Bogato FH. A review of the influence of bacterial infection and of bacterial products [Coley's toxins] on malignant tumors in man. Acta Med Scand 1953; 145 [Suppl. 276]:5-103). Ensayos clínicos han demostrado supuestamente el beneficio del tratamiento con la vacuna de Coley para linfoma y melanoma (véase, por ejemplo, Kempin S, Cirrincone C, Myers J et al: Combined modality therapy of advanced nodular lymphomas: the role of nonspecific immunotherapy [MBV] as an important determinant of response and survival. Proc Am Soc Clin Oncol 1983;24:56; Kolmel KF, Vehmeyer K. Treatment of advanced malignant melanoma by a pyrogenic bacterial lysate: a pilot study. Onkologie 1991;14:411-17).

Se ha sugerido que la eficacia de algunas vacunas para cáncer bacterianas no específicas son atribuibles a componentes o productos bacterianos particulares, tales como ADN bacteriano o endotoxina (LPS), o debido a que inducen la expresión de factores particulares, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF) o la interleucina-12. Se ha atribuido un intervalo correspondientemente ancho de mecanismos fisiológicos a tales tratamientos, que oscilan de efectos generalizados de fiebre a mecanismos antiangiogénicos. Según estos diversos principios, se ha probado una amplia variedad de vacunas microbianas como inmunoestimulantes generales para el tratamiento de cáncer. Aunque la mayoría ha mostrado resultados negativos, algunas han mostrado algunos resultados positivos interesantes en ciertos contextos, como se trata más adelante.

Se ha informado que el tratamiento con la vacuna BCG intradérmica (*Mycobacterium bovis)* es eficaz para el tratamiento de cáncer de estómago (véase, por ejemplo, Ochiai T, Sato J, Hayashi R, et al: Postoperative adjuvant immunotherapy of gastric cancer with BCG-cell wall endoskeleton. Three- to six-year follow-up of a randomized clinical trial. Cancer Immunol Immunother 1983; 14:167-171) y cáncer de colon (Smith RE, Colangelo L, Wieand HS, Begovic M, Wolmark N. Randomized trial of adjuvant therapy in colon carcinoma: 10-Year results of NSABP protocol C-01. J. NCI 2004;96[15]:1128-32; Uyl-de Groot CA, Vermorken JB, Hanna MG, Verboon P, Groot MT, Bonsel GJ, Meijer CJ, Pinedo HM. Immunotherapy with autologous tumor cell-BCG vaccine in patients with colon cancer: a prospective study of medical and economic benefits Vaccine 2005; 23[17-18]:2379-87).

Se encontró que la terapia con la vacuna de *Mycobacterium* w, en combinación con quimioterapia y radiación, mejoraba significativamente la calidad de vida y respuesta a tratamiento en pacientes con cáncer de pulmón (véase, por ejemplo, Sur P, Dastidar A. Role of Mycobacterium was adjuvant treatment of lung cancer [non-small cell lung cancer]. J Indian Med Assoc 2003 Feb; 101 [2]:118-120). Similarmente, se encontró que la terapia con vacuna de *Mycobacterium vaccae* mejoraba la calidad de vida (véase, por ejemplo, O'Brien M, Anderson H, Kaukel E, et al. SRL172 [killed Mycobacterium vaccae] in addition to standard chemotherapy improves quality of life without affecting survival, in patients with advanced non-small-cell lung cancer: phase III results. Ann Oncol 2004 Jun;15[6];906-14) y el control de síntomas (Harper-Wynne C, Sumpter K, Ryan C, et al. Addition of SRL 172 to standard chemotherapy in small cell lung cancer [SCLC] improves symptom control. Lung Cancer 2005 Feb;47[2]:289-90) en pacientes con cáncer de pulmón.

La vacuna de *Corynebacterium parvum* se asoció a una tendencia hacia la supervivencia mejorada para el tratamiento de melanoma (véase, por ejemplo, Balch CM, Smalley RV, Bartolucci AA, et al. A randomized prospective trial of adjuvant C. parvum immunotherapy in 260 patients with clinically localized melanoma [stage I]. Cancer 1982 Mar 15;49[6]:1079-84).

Se encontró que la terapia con vacuna intradérmica de *Streptococcus pyogenes* era eficaz para el tratamiento de cáncer de estómago (véase, por ejemplo, Hanaue H, Kim DY, Machimura T, et al. Hemolytic streptococcus preparation OK-432; beneficial adjuvant therapy in recurrent gastric carcinoma. Tokai J Exp Clin Med 1987 Nov;12[4]:209-14).

Se encontró que la vacuna de *Nocardia rubrua* era eficaz para el tratamiento de cáncer de pulmón (véanse, por ejemplo, Yasumoto K, Yamamura Y. Randomized clinical trial of non-specific immunotherapy with cell-wall skeleton of Nocardia rubra. Biomed Pharmacother 1984;38[1]:48-54; Ogura T. Immunotherapy of respectable lung cancer using Nocardia rubra cell wall skeleton. Gan To Kagaku Ryoho 1983 Feb;10[2 Pt 2]:366-72) y se asoció a una tendencia a supervivencia mejorada para el tratamiento leucemia mielógena aguda (Ohno R, Nakamura H, Kodera Y, et al. Randomized controlled study of chemoimmunotherapy of acute myelogenous leukemia [AML] in adults with Nocardia rubra cell-wall skeleton and irradiated allogeneic AML cells. Cancer 1986 Apr 15;57[8]: 1483-8).

Se encontró que el tratamiento con vacuna de *Lactobacillus casei* combinada con radiación era más eficaz para el tratamiento de cáncer de cuello uterino que la radiación sola (véase, por ejemplo, Okawa T, Kita M, Arai T, et al. Phase II randomized clinical trial of LC9018 concurrently used with radiation in the treatment of carcinoma of the uterine cervix. Its effect on tumor reduction and histology. Cancer 1989 Nov 1;64[9]:1769-76).

Se encontró que el tratamiento con vacuna de *Pseudomonas aeruginosa* aumentaba la eficacia de la quimioterapia en el tratamiento de linfoma y cáncer de pulmón (véase, por ejemplo, Li Z, Hao D, Zhang H, Ren L, et al. A clinical study on PA_MSHA vaccine used for adjuvant therapy of lymphoma and lung cancer. Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao 2000 Sep;31[3]:334-7).

Se encontró que la vacunación infantil con la vacuna de la viruela (es decir, vacuna del virus de la variolovacuna) se asociaba a un riesgo reducido de melanoma más tarde en la vida (véase, por ejemplo, Pfahlberg A, Kolmel KF, Grange JM. et al. Inverse association between melanoma and previous vaccinations against tuberculosis and smallpox: results of the FEBIM study. J Invest Dermatol 2002[119]:570-575), además de mortalidad reducida en aquellos pacientes que desarrollaron el melanoma (véase, por ejemplo, Kolmel KF, Grange JM, Krone B, et al. Prior immunization of patients with malignant melanoma with vaccinia or BCG is associated with better survival. European Organization for Research and Treatment of Cancer cohort study on 542 patients. Eur J Cancer 41[2005]:118-125).

Se encontró que el tratamiento con la vacuna del virus de la rabia producía remisión temporal en 8 de 30 pacientes con melanoma (véanse, por ejemplo, Higgins G, Pack G. Virus therapy in the treatment of tumors. Bull Hosp Joint Dis 1951;12:379-382; Pack G. Note on the experimental use of rabies vaccine for melanomatosis. Arch Dermatol 1950;62:694-695).

A pesar de los esfuerzos sustanciales para comprometer el sistema inmunitario para combatir cánceres usando vacunas microbianas inmunoestimulantes no específicas, la gran mayoría de estos esfuerzos han fracasado y hay poca evidencia clínica o de investigación de éxito generalizado en mejorar la supervivencia de poblaciones de pacientes con cáncer. Aunque se ha reconocido que los enfoques de vacunas microbianas inmunoestimulantes son prometedores, también se ha reconocido que retos significativos caracterizan el campo (véanse, por ejemplo, Ralf Kleef, Mary Ann Richardson, Nancy Russell, Cristina Ramirez. "Endotoxin and Exotoxin Induced Tumor Regression with Special Reference to Coley Toxins: A Survey of the Literature and Possible Immunological Mechanisms." Report to the National Cancer Institute Office of Alternative and Complementary Medicine August 1997; DL Mager. "Bacteria and Cancer: Cause, Coincidence or Cure? A Review." Journal of Translational Medicine 28 March 2006 4[14]:doi:10.1186/1479-5876-4-14).

La enfermedad inflamatoria del intestino (EII) es un nombre frecuentemente dado a un grupo de afecciones inflamatorias del colon e intestino delgado, generalmente caracterizado por síntomas similares y etiología indeterminada. Los principales subtipos de EII son clínicamente reconocidos como enfermedad de Crohn y colitis

ulcerosa. Además de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, la EII también puede incluir afecciones reconocidas como una cualquiera de las siguientes: colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, síndrome de Behçet o colitis indeterminada. La diferencia entre estas afecciones se refiere principalmente a la localización y naturaleza de los cambios inflamatorios en el tubo gastrointestinal (GIT). La enfermedad de Crohn, por ejemplo, es generalmente reconocida como que afecta posiblemente cualquier parte del tubo gastrointestinal, desde la boca hasta el ano, con una mayoría de los casos marcados por inflamación granulomatosa recidivante y remitente del tubo digestivo en el íleon terminal y colon. La colitis ulcerosa, a diferencia, se considera generalmente que está restringida al colon y el recto. Las diversas regiones del tubo gastrointestinal, en donde estas afecciones inflamatorias pueden presentar síntomas incluyen: las entrañas o intestino, que incluyen: el intestino delgado (que tiene tres partes: el duodeno, el yeyuno y el íleon); el intestino grueso (que tiene tres partes: el ciego, el colon, que incluye el colon ascendente, colon transversal, colon descendente y colon sigmoide; y el recto); y el ano.

El entendimiento de enfermedades inflamatorias del intestino está evolucionando, pero hasta ahora está incompleto en muchos respectos (véanse, por ejemplo, Baumgart DC, Carding SR (2007) "Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology" The Lancet 369 (9573): 1627-40; Baumgart DC, Sandborn WJ (2007) "Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies" The Lancet 369 (9573): 1641-57; Xavier RJ, Podolsky DK (2007) "Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease" Nature 448 (7152): 427-34; J. H. Cho (2008) "The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease" Nature Reviews Immunology 8, 458-466).

Pueden usarse fármacos antiinflamatorios y supresores del sistema inmunitario en el tratamiento de EII, tales como sulfasalazina (Azulfidine™), mesalamina (Asacol™, Rowasa™), corticosteroides (por ejemplo, prednisona), azatioprina (Imuran™), mercaptopurina (Purinethol™), infliximab (Remicade™), adalimumab (Humira™), certolizumab pegol (Cimzia™), metotrexato (Rheumatrex™), ciclosporina (Gengraf™, Neoral™, Sandimmune™) o natalizumab (Tysabri™).

Se han sugerido tratamientos alternativos para EII, que incluyen el uso de diversos agentes biológicos, o tratamientos que supuestamente ajustan la flora intestinal natural, llamados algunas veces los tratamientos probióticos (documentos US 2007/0258953; US 2008/0003207; WO 2007/076534; WO 2007/136719; WO 2010/099824). Se ha informado, por ejemplo, que EII puede tratarse con una infestación deliberada de gusanos parasíticos, por ejemplo por el consumo de los huevos vivos del helminto *Trichuris suis* (Summers et al. (2003) "Trichuris suis seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease". Am. J. Gastroenterol. 98 (9): 2034-41; Büning et al., (2008) "Helminths as governors of inflammatory bowel disease" Gut 57:1182-1183; Weinstock and Elliott (2009) "Helminths and the IBD hygiene hypothesis" Inflamm Bowel Dis. 2009 Jan;15(1):128-33). Torres et al. se titula (1995) "Evaluation of formalin-activated Clostridium difficile vaccines administered by parenteral and mucosal routes of immunization in hamsters". Infection and Immunity. 63 (12): 4619-27. Kruis et al. (1997) se titula "Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis", Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 11(5):853-585. Braat et al. (2007) se titula "Prevention of experimental colitis by parenteral administration of a pathogen-derived immunomodulatory molecule", Gut, 56(3):351-357. Marks et al. (2006) se titula "Defective acute inflammation in Crohn's disease: a clinical investigation", Lancet, 367(9511):668-678.

Sumario de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones.

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición antigénica para su uso en el tratamiento de un paciente humano con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) que es sintomática en una región de un tubo gastrointestinal (GIT), en la que la composición antigénica comprende determinantes antigénicos que juntos son específicos para al menos una *Escherichia coli* que es patógena en la región del GIT, en la que la composición antigénica se administra por vía intradérmica o por vía subcutánea, en la que la composición antigénica comprende células completamente destruidas de la *Escherichia coli*, en la que la composición antigénica se administra en una forma farmacéutica en un sitio de administración en dosis sucesivas administradas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de la dosificación de al menos 1 semana, en donde cada forma farmacéutica de la composición antigénica es eficaz para producir una inflamación localizada visible en el sitio de administración en un plazo de 1 a 48 horas y la inflamación localizada visible es un área de inflamación de 2 mm a 100 mm de diámetro, que aparece opcionalmente entre 2 y 48 horas después de la administración y que dura opcionalmente entre 2 y 72 horas.

La composición antigénica para su uso según la presente invención se formula para administración subcutánea o intradérmica repetida como se ha descrito anteriormente. Un método puede implicar destruir el patógeno de *E. coli* para formular la composición antigénica en la composición de patógeno completamente destruida.

Según la presente invención, la composición antigénica se administra en un sitio de administración en dosis sucesivas administradas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de

dosificación de al menos una semana. La composición antigénica se administra en una forma farmacéutica, en la que cada forma farmacéutica de la composición antigénica es eficaz para producir inflamación localizada visible en el sitio de administración en el plazo de 1 a 48 horas.

La composición antigénica antes de su uso según la presente invención se formula para inyección subcutánea o inyección intradérmica. La dosificación o formulación de la composición antigénica puede ajustarse con el fin de producir una inflamación localizada visible en la piel en el sitio de administración, que es un área de inflamación de 2 mm a 100 mm de diámetro que aparece en un plazo de 1 a 48 horas, por ejemplo, 2 - 48 horas después de la administración y que dura, por ejemplo, 2 - 72 horas o más.

La composición antigénica se usa según la presente invención por administración, por inyección subcutánea o intradérmica, en un sitio de administración, en dosis sucesivas administradas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de la dosificación de al menos 1 semana, por ejemplo, al menos 2 semanas, 2 meses, 6 meses, 1, 2, 3, 4, o 5 años o más. Cada dosis de inyección se dosifica, por ejemplo, de manera que sea eficaz para producir un área de inflamación localizada visible que es de 2 mm a 100 mm de diámetro en el sitio de administración, que aparece, por ejemplo, en un plazo de 1 a 48 horas, por ejemplo, 2 – 48 horas después de la inyección y que dura opcionalmente entre 2 y 72 horas.

En una realización, las células de *Escherichia coli* completamente destruidas usadas en la composición antigénica de la presente invención pueden haber sido capaces de causar la infección naturalmente, (es decir, sin intervención humana) en el tubo gastrointestinal en un sujeto sano.

Las *E. coli* en la composición antigénica se destruyen, y así se hacen no infecciosas.

Por consiguiente, la presente invención proporciona una composición inmunogénica, como se ha definido anteriormente, para su uso en el tratamiento de una EII. La EII es una EII que es sintomática en una o más regiones del GIT de un paciente humano, tal como enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, síndrome de Behçet o colitis indeterminada. El tratamiento del paciente puede implicar una etapa de diagnóstico de identificar la región del GIT dentro del que la EII es sintomática. La composición antigénica comprende determinantes antigénicos que juntos son específicos para al menos una *Escherichia coli* que es patógena en la región afectada del GIT y en la que la composición antigénica comprende células completamente destruidas de la *Escherichia coli*.

Descripción detallada de la invención

La invención es como se define en las reivindicaciones.

Los presentes inventores han hecho el sorprendente descubrimiento que la administración, por ejemplo en un sitio remoto del cáncer, de patógenos microbianos, tales como patógenos microbianos destruidos, que son patógenos en un tejido u órgano particular, es eficaz en el tratamiento de cáncer situado en ese tejido u órgano específico. Por consiguiente, como se describe en el presente documento, las composiciones antigénicas derivadas de estos patógenos microbianos, que incluyen especies bacterianas o virales completamente destruidas, o componentes de las mismas, pueden usarse para el tratamiento de cáncer.

Basándose en las observaciones del tratamiento de pacientes, se encontró que la administración de composiciones de bacterias destruidas que incluyeron muchas de las especies bacterianas que comúnmente producen infección pulmonar era sorprendentemente e inesperadamente eficaz en mejorar la evolución clínica del cáncer del pulmón. Similarmente, se encontró que la administración de las composiciones que incluyen *Staphylococcus aureus* destruido, una de las causas más comunes de infección de hueso, mama, piel, perineal y de ganglios linfáticos y septicemia, era sorprendente e inesperadamente eficaz en mejorar la evolución clínica del cáncer de hueso, mama, piel, perineo y linfoma (cáncer de los ganglios linfáticos) y mieloma múltiple (un tipo de cáncer hematológico). Similarmente, se encontró sorprendente e inesperadamente que la administración de una composición que incluye *Escherichia coli,* que es una causa común de infección de colon, riñón, peritoneal, de hígado, abdominal, pancreática y de ovario, fue eficaz en mejorar la evolución clínica del cáncer en el colon, riñón, peritoneo, hígado, ganglios linfáticos abdominales, páncreas y ovario.

Estos resultados indican que una composición que incluye antígenos de especies patógenas microbianas que producen la infección en un tejido u órgano particular será una formulación eficaz para tratar un cáncer en ese tejido u órgano. Por ejemplo, el cáncer en el pulmón es eficazmente tratado con una composición microbiana que incluye una o más especies patógenas que comúnmente producen infección de pulmón, mientras que el cáncer en el colon es eficazmente tratado con una composición que incluye especies microbianas patógenas que comúnmente producen infecciones de colon.

Sin embargo, más particularmente, la presente invención proporciona una composición antigénica para su uso en el tratamiento de un paciente humano con la EII que es sintomática en una región de un GIT, en la que la composición antigénica comprende determinantes antigénicos que juntos son específicos de al menos una *Escherichia coli* que

es patógena en la región del GIT, en la que la composición antigénica se administra por vía intradérmica o por vía subcutánea, en la que la composición antigénica comprende células completamente destruidas de la *Escherichia coli*, en la que la composición antigénica se administra en una forma farmacéutica en un sitio de administración en dosis sucesivas administradas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de la dosificación de al menos 1 semana, en la que cada forma farmacéutica de la composición antigénica es eficaz para causar una inflamación localizada visible en el sitio de administración en un plazo de 1 a 48 horas y la inflamación localizada visible es un área de inflamación de 2 mm a 100 mm de diámetro, que aparece opcionalmente de 2 a 48 horas después de la administración y que dura opcionalmente de 2 a 72 horas.

Pueden producirse composiciones antigénicas de la invención que incluyen determinantes antigénicos que juntos son específicos para o característicos de un patógeno microbiano. En este contexto, por "específico" se indica que los determinantes antigénicos son suficientemente característicos del patógeno que podría usarse para producir una respuesta inmunitaria, tal como una respuesta inmunitaria adaptativa, contra el patógeno en el paciente, si los determinantes antigénicos fueran a administrarse en una manera apropiada para tener ese efecto. Se reconocerá que los determinantes antigénicos no necesitan ser tan específicos que sean característicos de solo una cepa particular o especie de patógeno, ya que incluso una respuesta inmunitaria específica contra un patógeno particular puede ser reactiva de forma cruzada con otros organismos estrechamente relacionados que también son naturalmente patógenos en el tejido u órgano en el que el cáncer está situado y que la composición antigénica se formula o selecciona para la diana.

Diversas realizaciones alternativas y ejemplos de la invención se describen en el presente documento. Estas realizaciones y ejemplos son ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención.

Una "célula" es la unidad estructural y funcional básica de un organismo vivo. En organismos superiores, por ejemplo, animales, las células que tienen estructura y función similares generalmente se agregan en "tejidos" que realizan funciones particulares. Así, un tejido incluye un conjunto de células similares y sustancias intercelulares circundantes, por ejemplo, tejido epitelial, tejido conjuntivo, músculo, nervio. Un "órgano" es una unidad estructural y funcional completamente diferenciada en un organismo superior que puede estar compuesto de diferentes tipos de tejidos y está especializado para alguna función particular, por ejemplo, riñón, corazón, cerebro, hígado, etc. Por consiguiente, por "órgano, tejido o célula específico" se indica en el presente documento que incluye cualquier órgano particular, y que incluye las células y tejidos encontrados en ese órgano.

Agentes "patógenos" son agentes, tales como microbios, tales como bacterias o virus, que son conocidos por producir infección en un hospedador en la naturaleza, y en este sentido, "patógeno" se usa en el contexto de la presente invención para significar "naturalmente patógeno". Aunque una amplia variedad de microbios puede ser capaz de causar infección bajo condiciones artificiales, tales como inoculaciones artificiales de un microbio en un tejido, el intervalo de microbios que producen naturalmente infección está necesariamente limitado, y bien establecido por la práctica médica.

Una "infección" es el estado o afección en que el cuerpo o una parte de él es invadido por un agente patógeno (por ejemplo, un microbio, tal como una bacteria) que, bajo condiciones favorables, se multiplica y produce efectos que son perjudiciales (Taber's Cyclopedic Medical Dictionary, 14th Ed., C.L. Thomas, Ed., F.A. Davis Company, PA, EE.UU.). Una infección puede no siempre ser clínicamente evidente y puede producir solo lesión celular localizada. Las infecciones pueden seguir siendo subclínicas, y temporales si los mecanismos de defensa del cuerpo son eficaces. Las infecciones pueden diseminarse localmente para llegar a ser clínicamente evidentes como una infección clínica aguda, subaguda o crónica o estado de enfermedad. Una infección local también puede llegar a ser sistémica cuando el agente patógeno accede al sistema linfático o vascular (On-Line Medical Dictionary, http://cancerweb.ncl.ac.uk/omd/). La infección va normalmente acompañada de inflamación, pero la inflamación puede producirse sin infección.

"Inflamación" es la reacción tisular característica a la lesión (marcada por hinchazón, rojez, calor y dolor), e incluye los cambios sucesivos que se producen en el tejido vivo cuando se lesiona. La infección e inflamación son afecciones diferentes, aunque una puede surgir a partir de la otra (Taber's Cyclopedic Medical Dictionary, arriba). Por consiguiente, la inflamación puede producirse sin infección y la infección puede producirse sin inflamación (aunque la inflamación normalmente resulta de la infección por bacterias patógenas o virus). La inflamación se caracteriza por los siguientes síntomas: rojez (rubor), calor, hinchazón (tumor), dolor. La inflamación visible localizada sobre la piel puede ser evidente de una combinación de estos síntomas, particularmente la rojez en un sitio de administración.

Aunque se prevé que puedan tratarse diversos sujetos, los pacientes humanos con una EII se tratan según la presente invención. Como se usa en el presente documento, un "sujeto" es un animal, por ejemplo, un mamífero, al que las bacterias patógenas específicas, antígenos bacterianos, virus, antígenos virales o composiciones de los mismos de la invención pueden administrarse. En algunas realizaciones, los términos "sujeto" y "paciente" pueden usarse indistintamente. Un sujeto sano puede ser un ser humano que no padece un cáncer o que se sospecha que tiene un cáncer, o que no padece un trastorno crónico o afección. Un "sujeto sano" también puede ser un sujeto que no está inmunodeprimido. Por inmunodeprimido se indica cualquier afección en la que el sistema inmunitario

funciona de una manera anormal o incompleta. La inmunodepresión puede ser debida a enfermedad, ciertas medicaciones, o afecciones presentes al nacer. Los sujetos inmunodeprimidos pueden encontrarse más frecuentemente entre lactantes, ancianos e individuos que reciben una extensa farmacoterapia o radioterapia.

Una "respuesta inmunitaria" incluye, pero no se limita a, una o más de las siguientes respuestas en un mamífero: inducción o activación de anticuerpos, neutrófilos, monocitos, macrófagos (incluyendo tanto macrófagos similares a M1 como macrófagos similares a M2 como se describe en el presente documento), linfocitos B, linfocitos T (incluyendo linfocitos T cooperadores, linfocitos citolíticos espontáneos, linfocitos T citotóxicos, linfocitos □□ T), tal como inducción o activación por el (los) antígeno(s) en una composición o vacuna, tras la administración de la composición o vacuna. Una respuesta inmunitaria a una composición o vacuna incluye así generalmente el desarrollo en el animal hospedador de una respuesta celular y/o mediada por anticuerpo a la composición o vacuna de interés. En algunas realizaciones, la respuesta inmunitaria es tal que también producirá el ralentizamiento o la detención de la progresión de un cáncer en el animal. Una respuesta inmunitaria incluye tanto respuestas inmunitarias celulares como respuestas inmunitarias humorales como es entendido por aquellos expertos en la materia.

Bacterias y colonizaciones e infecciones bacterianas

La mayoría de los animales son colonizados a cierto grado por otros organismos, tales como bacterias, que generalmente existen en relaciones simbióticas o comensales con el animal hospedador. Así, muchas especies de bacterias normalmente inocuas se encuentran en animales sanos, y normalmente están localizadas en la superficie de órganos y tejidos específicos. Frecuentemente, estas bacterias ayudan en el funcionamiento normal del cuerpo. Por ejemplo, en seres humanos, las bacterias simbióticas *Escherichia coli* pueden encontrarse en el intestino, donde promueven la inmunidad y reducen el riesgo de infección con patógenos más virulentos.

Bacterias que son generalmente inocuas, tales como *Escherichia coli,* pueden producir infección en sujetos sanos, con resultados que oscilan de infección de leve a grave a muerte. Si una bacteria es o no patógena (es decir, produce infección) depende de algún modo de factores tales como la vía de entrada y el acceso a células hospedadoras, tejidos u órganos específicos; la virulencia intrínseca de la bacteria; la cantidad de bacterias presentes en el sitio de posible infección; o la salud del animal hospedador. Así, bacterias que normalmente son inocuas pueden llegar a ser patógenas dadas condiciones favorables para la infección, e incluso la bacteria más virulenta requiere circunstancias específicas para producir la infección. Por consiguiente, especies microbianas que son miembros de la flora normal pueden ser patógenas cuando van más allá de su función ecológica normal en la flora endógena. Por ejemplo, las especies endógenas pueden producir infección fuera de su nicho ecológico en regiones de proximidad anatómica, por ejemplo por diseminación contigua. Cuando esto se produce, estas bacterias endógenas normalmente inocuas se consideran patógenas.

Especies bacterianas específicas y virus son conocidos por producir infecciones en células, tejidos u órganos específicos en sujetos por lo demás sanos. Ejemplos de bacterias y virus que comúnmente producen infecciones en órganos y tejidos específicos del cuerpo se enumeran a continuación; se entenderá que estos ejemplos no pretenden ser limitantes y que un experto sería capaz de reconocer e identificar fácilmente bacterias infecciosas o patógenas que producen infecciones, o comúnmente causan infecciones, en diversos órganos y tejidos en adultos sanos (y reconocen la frecuencia relativa de infección con cada especie bacteriana) basándose en el conocimiento en el campo como se representó, por ejemplo, por las siguientes publicaciones: Manual of Clinical Microbiology 8th Edition, Patrick Murray, Ed., 2003, ASM Press American Society for Microbiology, Washington DC, USA; Mandell, Douglas, y Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 5th Edition, G. L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, Eds., 2000, Churchill Livingstone, Philadelphia, PA, EE.UU.

Infecciones de la piel son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus,* grupo A, B, C o G de estreptococo beta hemolítico, *Corynebacterium diphtheriae, Corynebacterium ulcerans* o *Pseudomonas aeruginosa*; o patógenos virales: rubeola, varicela-zóster, ecovirus, virus de Coxsackie, adenovirus, variolovacuna, herpes simple o parvo B19.

Infecciones de tejido blando (por ejemplo, grasa y músculo) son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens,* u otros *Clostridium* spp.; o patógenos virales: gripe, o virus de Coxsackie.

Infecciones de la mama son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pyogenes.*

Infecciones de los ganglios linfáticos de la cabeza y el cuello son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: Staphylococcus *aureus* o *Streptococcus pyogenes*; o patógenos virales: Epstein-Barr, citomegalovirus, adenovirus, sarampión, rubeola, herpes simple, virus de Coxsackie o varicela-zóster.

Infecciones de los ganglios linfáticos del brazo/axilas son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: Staphylococcus *aureus* o *Streptococcus pyogenes*; o patógenos virales: sarampión, rubeola, Epstein-

Barr, citomegalovirus, adenovirus o varicela-zóster.

Infecciones de los ganglios linfáticos del mediastino son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: estreptococos viridans, *Peptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., o *Mycobacterium tuberculosis*; o patógenos virales: sarampión, rubeola, Epstein-Barr, citomegalovirus, varicela-zóster o adenovirus.

Infecciones de los ganglios linfáticos hiliares pulmonares son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Mycoplasma pneumoniae, Klebsiella pneumoniae, haemophilus influenzae, Chlamydophila pneumoniae, Bordetella pertussis o Mycobacterium tuberculosis;* o patógenos virales: gripe, adenovirus, rinovirus, coronavirus, paragripe, virus respiratorio sincitial, metaneumovirus humano o virus de Coxsackie.

Infecciones de los ganglios linfáticos intra-abdominales son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Yersinia enterocolitica, Yersinia pseudotuberculosis, Salmonella* spp., *Streptococcus pyogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* o *Mycobacterium tuberculosis;* o patógenos virales: sarampión, rubeola, Epstein-Barr, citomegalovirus, varicela-zóster, adenovirus, gripe o virus de Coxsackie.

Infecciones de los ganglios linfáticos de la pierna/región inguinal son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pyogenes*; o patógenos virales: sarampión, rubeola, Epstein-Barr, citomegalovirus o herpes simple.

Infecciones de la sangre (es decir, septicemia) son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes,* estafilococos negativos para coagulasa, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa, Bacteroides fragilis, Streptococcus pneumoniae,* o estreptococos del grupo B; o patógenos virales: rubeola, varicela-zóster, ecovirus, virus de Coxsackie, adenovirus, Epstein-Barr, herpes simple o citomegalovirus.

Infecciones del hueso son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus,* estafilococos negativos para coagulasa, *Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus agalactiae,* otros estreptococos spp., *Escherichia coli, Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., o *Serratia* spp.; o patógenos virales: parvovirus B19, rubeola o hepatitis B.

Infecciones de la meninge son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus agalactiae* o *Listeria monocytogenes*; o patógenos virales: ecovirus, virus de Coxsackie, otros enterovirus, o paperas.

Infecciones del cerebro son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus* spp. (incluyendo *S. anginosus, S. constellatus, S. intermedius*), *Staphylococcus aureus, Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Proteus* spp., *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., o *Borrelia burgdorferi*; o patógenos virales: virus de Coxsackie, ecovirus, virus de la poliomielitis, otros enterovirus, paperas, herpes simple, varicela-zóster, flavivirus o bunyavirus.

Infecciones de la médula espinal son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus agalactiae, Listeria monocytogenes* o *Borrelia burgdorferi*; o patógenos virales: virus de Coxsackie, ecovirus, virus de la poliomielitis, otros enterovirus, paperas, herpes simple, varicela-zóster, flavivirus o bunyavirus.

Infecciones del ojo/órbita son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus milleri, Escherichia coli, Bacillus cereus, Chlamydia trachomatis, Haemophilus influenza, Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: adenovirus, herpes simple, varicela-zóster o citomegalovirus.

Infecciones de las glándulas salivales son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus,* estreptococos viridans (por ejemplo, *Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguis, Streptococcus mutans*), *Peptostreptococcus* spp., o *Bacteroides* spp., u otros anaerobios orales; o patógenos virales: paperas, gripe, enterovirus o rabia.

Infecciones de la boca son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Prevotella melaninogenicus,* estreptococos anaerobios, estreptococos viridans, *Actinomyces* spp., *Peptostreptococcus* spp., o *Bacteroides* spp., u otros anaerobios orales; o patógenos virales: herpes simple, virus de Coxsackie o Epstein-Barr.

Infecciones de las amígdalas son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes,* o estreptococos hemolíticos B del grupo C o G; o patógenos virales: rinovirus, gripe, coronavirus, adenovirus, paragripe, virus respiratorio sincitial o herpes simple.

Infecciones de los senos son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenza, Moraxella catarrhalis,* α-estreptococos, bacterias anaerobias (por ejemplo, *Prevotella* spp.), o *Staphylococcus aureus*; o patógenos virales: rinovirus, gripe, adenovirus o paragripe.

Infecciones de la nasofaringe son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes,* o estreptococos hemolíticos B del grupo C o G; o patógenos virales: rinovirus, gripe, coronavirus, adenovirus, paragripe, virus respiratorio sincitial o herpes simple.

Infecciones de la tiroides son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes o Streptococcus pneumoniae*; o patógenos virales: paperas, o gripe.

Infecciones de la laringe son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae* o *Streptococcus pyogenes*; o patógenos virales: rinovirus, gripe, paragripe, adenovirus, coronavirus o metaneumovirus humano.

Infecciones de la tráquea son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Mycoplasma pneumoniae*; o patógenos virales: paragripe, gripe, virus respiratorio sincitial o adenovirus.

Infecciones de los bronquios son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Mycoplasma pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae, Bordetella pertussis, Streptococcus pneumoniae* o *Haemophilus influenzae*; o patógenos virales: gripe, adenovirus, rinovirus, coronavirus, paragripe, virus respiratorio sincitial, metaneumovirus humano o virus de Coxsackie.

Infecciones del pulmón son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis, Mycoplasma pneumoniae, Klebsiella pneumoniae* o *Haemophilus influenza*; o patógenos virales: gripe, adenovirus, virus respiratorio sincitial o paragripe.

Infecciones de la pleura son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Bacteroides fragilis, Prevotella* spp., *Fusobacterium nucleatum, Peptostreptococcus* spp. o *Mycobacterium tuberculosis;* o patógenos virales: gripe, adenovirus, virus respiratorio sincitial, o paragripe.

Infecciones del mediastino son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: estreptococos viridans, *Peptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., o *Mycobacterium tuberculosis*; o patógenos virales: sarampión, rubeola, Epstein-Barr o citomegalovirus.

Infecciones del corazón son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus* spp. (incluyendo *S. mitior, S. bovis, S. sanguis, S. mutans, S. anginosus*), *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium diptheriae, Clostridium perfringens, Neisseria meningitidis* o Salmonella spp.; o patógenos virales: enterovirus, virus de Coxsackie, ecovirus, virus de la poliomielitis, adenovirus, paperas, rubeola o gripe.

Infecciones del esófago son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Actinomyces* spp., *Mycobacterium avium, Mycobacterium tuberculosis* o *Streptococcus* spp.; o patógenos virales: citomegalovirus, herpes simple o varicela-zóster.

Infecciones del estómago son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes o Helicobacter pylori*; o patógenos virales: citomegalovirus, herpes simple, Epstein-Barr, rotavirus, norovirus o adenovirus.

Infecciones del intestino delgado son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Clostridium difficile, Bacteroides fragilis, Bacteroides vulgatus, Bacteroides thetaiotaomicron, Clostridium perfringens, Salmonella enteriditis, Yersinia enterocolitica* o *Shigella flexneri*; o patógenos virales: adenovirus, astrovirus, calicivirus, norovirus, rotavirus o citomegalovirus.

Infecciones del colon/recto son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Clostridium difficile, Bacteroides fragilis, Bacteroides vulgatus, Bacteroides thetaiotaomicron, Clostridium perfringens, Salmonella enteriditis, Yersinia enterocolitica* o *Shigella flexneri*; o patógenos virales: adenovirus, astrovirus, calicivirus, norovirus, rotavirus o citomegalovirus.

Infecciones del ano son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes, Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., estreptococos anaerobios, *Clostridium* spp., *Escherichia coli, Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa* o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: herpes simple.

Infecciones del perineo son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Pseudomonas aeruginosa,* estreptococos anaerobios, *Clostridium* spp., o *Enterobacter* spp.; o patógenos virales: herpes simple.

Infecciones del hígado son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Streptococcus* (grupo anginosus), *Enterococcus*, spp., otros estreptococos viridans, o *Bacteroides* spp.; o patógenos virales: hepatitis A, Epstein-Barr, herpes simple, paperas, rubeola, rubeola, varicela-zóster, virus de Coxsackie o adenovirus.

Infecciones de la vesícula biliar son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., enterococos, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Salmonella enteriditis, Yersinia enterocolitica* o *Shigella flexneri.*

Infecciones de las vías biliares son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., enterococos, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Salmonella enteriditis, Yersinia enterocolitica* o *Shigella flexneri*; o patógenos virales: hepatitis A, Epstein-Barr, herpes simple, paperas, rubeola, rubeola, varicela-zóster, virus de Cocksackie o adenovirus.

Infecciones del páncreas son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., Staphylococcal spp., *Mycoplasma* spp., *Salmonella typhi, Leptospirosis* spp., o *Legionella* spp.; o patógenos virales: paperas, virus de Coxsackie, hepatitis B, citomegalovirus, herpes simple 2 o varicela-zóster.

Infecciones del bazo son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli* o *Enterococcus* spp.; o patógenos virales: Epstein-Barr, citomegalovirus, adenovirus, sarampión, rubeola, virus de Coxsackie o varicela-zóster.

Infecciones de la glándula suprarrenal son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli* o *Enterococcus* spp.; o patógenos virales: varicela-zóster.

Infecciones del riñón son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Proteus vulgatus, Providentia* spp., *Morganella* spp., *Enterococcus faecalis* o *Pseudomonas aeruginosa*; o patógenos virales: virus BK, o paperas.

Infecciones del uréter son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Proteus vulgatus, Providentia* spp., *Morganella* spp. o *Enterococcus* spp.

Infecciones de la vejiga son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Proteus mirabilis, Proteus vulgatus, Providentia* spp., *Morganella* spp., *Enterococcus faecalis* o *Corynebacterium jekeum*; o patógenos virales: adenovirus, o citomegalovirus.

Infecciones del peritoneo son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumonia, Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Proteus* spp., enterococos, *Bacteroides fragilis, Prevotella melaninogenica, Peptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacterium* spp. o *Clostridium* spp.

Infecciones del área retroperitoneal son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli* o *Staphylococcus aureus.*

Infecciones de la próstata son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus mirabilis,* enterococos spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp., o *Neisseria gonorrhoeae*; o patógenos virales: herpes simple.

Infecciones del testículo son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. o *Salmonella enteriditis*; o patógenos virales: paperas, virus de Coxsackie o virus de la coriomeningitis linfocítica.

Infecciones del pene son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Neisseria gonorrhoeae* o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: herpes simple.

Infecciones del ovario/anejos son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Peptococcus* spp. *Streptococcus* spp. o *Escherichia coli.*

Infecciones del útero son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Peptococcus* spp., *Streptococcus* spp. o *Escherichia coli.*

Infecciones del cuello uterino son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis* o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: herpes simple.

Infecciones de la vagina son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Gardnerella vaginalis, Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Peptococci* spp., *Escherichia coli, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia Trachomatis* o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: herpes simple.

Infecciones de la vulva son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes* o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: herpes simple.

Cepas bacterianas / subtipos virales

Se entenderá por un experto en la materia que las especies bacterianas se clasifican operacionalmente como colecciones de cepas similares (que generalmente se refieren a grupos de supuesto linaje común con distinciones fisiológicas identificables, pero normalmente no morfológicas, y que pueden identificarse usando técnicas serológicas contra antígenos de superficie bacterianos). Así, cada especie bacteriana (por ejemplo, *Streptococcus pneumoniae*) tiene numerosas cepas (o serotipos), que pueden diferenciarse en su capacidad para producir infección o diferir en su capacidad para producir infección en un órgano/sitio particular. Por ejemplo, aunque hay al menos 90 serotipos de *Streptococcus pneumoniae,* los serotipos 1, 3, 4, 7, 8 y 12 son los más frecuentemente responsables de la enfermedad neumocócica en seres humanos.

Como segundo ejemplo, es más probable que ciertas cepas de *Escherichia coli,* denominadas *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC), produzcan infección de las vías urinarias u otras infecciones extraintestinales tales como meningitis neonatal, mientras que es más probable que otras cepas, que incluyen *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* productora de la toxina Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) produzcan infección/diarrea gastrointestinal. Incluso entre la subcategoría de cepas de ExPEC, factores de virulencia específicos (por ejemplo, producción de fimbrias de tipo-1) permiten que ciertas cepas sean más capaces de causar infección de la vejiga, mientras que otros factores de virulencia (por ejemplo, producción de fimbrias P) permiten que otras cepas sean más capaces de causar infección en los riñones. Por ejemplo, una cepa(s) de ExPEC que es más probable que produzca infección en la vejiga puede elegirse para una formulación para dirigirse a cáncer de vejiga, mientras que una cepa(s) de ExPEC que es más probable que produzca infección en el riñón puede elegirse para una formulación para dirigirse a cáncer de riñón. Asimismo, pueden elegirse una o más de una cepa de ETEC, EPEC, EHEC, STEC, EAEC, EIEC o DAEC de *E. coli* (es decir, cepas que producen infección de colon), para una formulación para tratar cáncer de colon.

Similarmente, puede haber numerosos subtipos de virus específicos. Por ejemplo, hay tres tipos de virus de la gripe, gripe A, gripe B y gripe C, que se diferencian en epidemiología, intervalo de hospedadores y características clínicas. Por ejemplo, es más probable que la gripe A se asocie a infección pulmonar viral, mientras que es más probable que la gripe B se asocie a miositis (es decir, infección de músculo). Además, cada uno de estos tres tipos de virus de la gripe tiene numerosos subtipos, que también pueden diferenciarse en epidemiología, intervalo de hospedadores y características clínicas. Por ejemplo, puede elegirse un subtipo de la gripe A lo más comúnmente asociado a infección de pulmón para dirigirse a cáncer de pulmón, mientras que puede elegirse una cepa de la gripe B lo más comúnmente asociada a miositis para tratar cáncer de músculo/tejidos blandos.

Se entiende que un experto en la materia en microbiología clínica sería, por tanto, capaz de seleccionar, basándose en la presente divulgación y el cuerpo de la técnica referente a las cepas bacterianas para cada especie de bacterias (y subtipos virales para cada tipo de virus), las cepas de una especie bacteriana particular (o subtipo de un virus particular) para dirigirse a un órgano o tejido específico.

Composiciones bacterianas, dosificaciones y administración

Las composiciones de la invención incluyen células *de Escherichia coli* completamente destruidas que son patógenas en el tubo gastrointestinal. Las especies de bacterias patógenas pueden estar comercialmente disponibles (de, por ejemplo, ATCC (Manassas, VA, EE.UU.), o pueden ser cepas aisladas clínicas de sujetos que tienen una infección bacteriana de un tejido o órgano.

Las composiciones antigénicas de la invención pueden proporcionarse solas o en combinación con otros compuestos (por ejemplo, moléculas de ácidos nucleicos, moléculas pequeñas, péptidos o análogos de péptidos), en presencia de un liposoma, un adyuvante, o cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable, en una forma adecuada para administración a mamíferos, por ejemplo, seres humanos. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles. El vehículo puede ser adecuado para administración subcutánea o intradérmica. Vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles o dispersión. El uso de tales

medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es muy conocido en la técnica. Excepto en la medida de que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo (es decir, las *Escherichia coli* completamente destruidas específicas, o composiciones de las mismas de la invención), se contempla el uso de las mismas en las composiciones farmacéuticas de la invención. También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios en las composiciones.

Si se desea, el tratamiento con *Escherichia coli* completamente destruidas según la invención puede combinarse con cualquier otra terapia prevista para estimular el sistema inmunitario, reducir la inflamación o beneficiar de otro modo al sujeto, tal como nutrientes, vitaminas y suplementos. Por ejemplo, también pueden administrarse al sujeto vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina C, complejo de vitamina B, selenio, cinc, co-enzima Q10, beta-caroteno, aceite de pescado, curcumina, té verde, bromelaína, resveratrol, semilla de lino molida, ajo, licopeno, cardo mariano, melatonina, otros antioxidantes, cimetidina, indometacina, o inhibidores de COX-2 (por ejemplo, Celebrex™ [celecoxib] o Vioxx™ [rofecoxib]).

Métodos muy conocidos en la técnica para la preparación de formulaciones se encuentran en, por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" (20ª edición), ed. A. Gennaro, 2000, Mack Publishing Company, Easton, PA. Las formulaciones para administración parenteral pueden contener, por ejemplo, excipientes, agua estéril, o solución salina, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal o naftalenos hidrogenados. Pueden usarse polímero de lactida biodegradable biocompatible, copolímero de lactida/glicolida o copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno para controlar la liberación de los compuestos. Otros sistemas de administración parenteral posiblemente útiles incluyen partículas de copolímeros de etileno-acetato de vinilo, bombas osmóticas, sistemas de infusión implantables y liposomas.

Una "cantidad eficaz" de células *de Escherichia coli* completamente destruidas según la invención incluye una cantidad terapéuticamente eficaz o una cantidad profilácticamente eficaz. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo y la capacidad del compuesto para provocar una respuesta deseada en el individuo. Las pautas de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Una cantidad terapéuticamente eficaz también puede ser una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de las células de *Escherichia coli* completamente destruidas es superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado.

Para administración por inyección subcutánea o intradérmica, un intervalo a modo de ejemplo para cantidades terapéuticamente o profilácticamente eficaces de células *de Escherichia coli* completamente destruidas puede ser aproximadamente 1 millón a 100.000 millones de organismos por ml, o puede ser 100 millones a 7000 millones de organismos por ml, o puede ser 500 millones a 6000 millones de organismos por ml, o puede ser 1000 millones a 5000 millones de organismos por ml, o puede ser 2000 millones a 4000 millones de organismos por ml, o cualquier número entero dentro de estos intervalos. La concentración total de bacterias por ml puede oscilar de 1 millón a 100.000 millones de organismos por ml, o puede ser 50 millones a 7000 millones de organismos por ml, o puede ser 100 millones a 6000 millones de organismos por ml, o puede ser 500 millones a 5000 millones de organismos por ml, o puede ser 1000 millones a 4000 millones de organismos por ml, o cualquier número entero dentro de estos intervalos. El intervalo para cantidades terapéuticamente o profilácticamente eficaces de antígenos de una especie de bacterias patógenas puede ser cualquier número entero de 0,1 nM-0,1 M, 0,1 nM-0,05 M, 0,05 nM-15 µM o 0,01 nM-10 µM.

Debe observarse que las concentraciones e intervalos de dosificación pueden variar con la gravedad de la afección que va a aliviarse, o pueden variar con la respuesta inmunitaria del sujeto. En general, el objetivo es lograr una respuesta inmunitaria adecuada. Para la administración por inyección subcutánea o intradérmica, el grado de una respuesta inmunitaria puede determinarse, por ejemplo, por el tamaño de la reacción inmunitaria de la piel local retardada en el sitio de inyección (por ejemplo, de 0,25 pulgadas a 4 pulgadas (0,635 cm a 10,2 cm) de diámetro). La dosis requerida para lograr una respuesta inmunitaria apropiada puede variar dependiendo del individuo (y su sistema inmunitario) y la respuesta deseada. También pueden usarse dosificaciones normalizadas. En el contexto de la administración subcutánea o intradérmica, si el objetivo es lograr una reacción de la piel local de 2 pulgadas, la dosis de composición bacteriana total puede oscilar, por ejemplo, de 2 millones de bacterias (por ejemplo, 0,001 ml de una vacuna con una concentración de 2.000 millones de organismos por ml) a más de 20.000 millones de bacterias (por ejemplo, 1 ml de una vacuna con una concentración de 20.000 millones de organismos por ml). También pueden considerarse concentraciones de células de *Escherichia coli* completamente destruidas dentro de una composición. Por ejemplo, si la concentración de células de *Escherichia coli* completamente destruidas, el tamaño de célula de esa especie o la carga antigénica de la misma es mucho mayor con respecto a las otras especies de bacterias patógenas en la vacuna, entonces la reacción de la piel inmunitaria local de un individuo puede ser probablemente debida a su respuesta a esta especie bacteriana específica. En algunas realizaciones, el sistema inmunitario de un individuo puede responder más fuertemente a una especie bacteriana dentro de una composición que otra, dependiendo por ejemplo de la historia pasada de exposición a infección por una especie particular, de manera que la dosificación o composición pueda ajustarse por consiguiente para ese individuo. Sin

embargo, en algunas realizaciones detalladas en el presente documento, una respuesta inmunitaria no se monitorizará a modo de una reacción de la piel. Por ejemplo, en algunos modelos de ratón utilizados en el presente documento, el tratamiento eficaz de tales animales con composiciones antigénicas puede no producir reacciones de la piel correspondientes. Un experto en la materia entenderá que hay formas alternativas, en donde una respuesta inmunitaria puede monitorizarse, además de basarse en la presencia o ausencia de una reacción de la piel.

De acuerdo con la presente solicitud, la composición antigénica se administra en una forma farmacéutica en un sitio de administración en dosis sucesivas proporcionadas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de dosificación de al menos 1 semana, en la que cada forma farmacéutica de la composición antigénica es eficaz para causar inflamación localizada visible en el sitio de administración en un plazo de 1 a 48 horas y la inflamación localizada visible es un área de inflamación de 2 mm a 100 mm de diámetro, que aparece opcionalmente de 2 a 48 horas después de la administración y que dura opcionalmente de 2 a 72 horas. Para cualquier sujeto particular, el momento preciso y la dosis de los tratamientos pueden ajustarse con el tiempo (por ejemplo, el momento preciso puede ser diariamente, cada dos días, semanalmente, mensualmente) según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o que supervisa la administración de las composiciones. Por ejemplo, en el contexto de la administración subcutánea o intradérmica, las composiciones pueden administrarse cada dos días. Una dosis inicial de aproximadamente 0,05 ml puede administrarse por vía subcutánea, seguido de aumentos de 0,01-0,02 ml cada dos días hasta que se logre una reacción de la piel adecuada en el sitio de inyección (por ejemplo, a 1 pulgada a 2 pulgadas (2,54 a 5,1 cm) de diámetro de reacción retardada de rojez visible en el sitio de inyección). Una vez se logra esta reacción inmunitaria adecuada, esta dosificación continúa como una dosis de mantenimiento. La dosis de mantenimiento puede ajustarse de vez en cuando para lograr la reacción de la piel visible deseada (inflamación) en el sitio de inyección. La dosificación es para una duración de dosificación, por ejemplo de al menos 1 semana, 2 semanas, 2 meses, 6 meses, 1, 2, 3, 4 o 5 años o más.

En algunas realizaciones, la invención puede incluir composiciones antigénicas administradas por vía intradérmica o por vía subcutánea a uno o más tejidos epiteliales (es decir, piel por inyección intradérmica o subcutánea) simultáneamente o secuencialmente. Por consiguiente, en algunas realizaciones, las composiciones antigénicas de la invención se administran de manera que provoquen una respuesta inmunitaria en un tejido epitelial. En algunas realizaciones, una o más vías epiteliales de administración intradérmica y/o subcutánea pueden combinarse con una o más vías de administración adicionales, tales como administración intramuscular o intravenosa.

En diversos aspectos de la invención, las composiciones antigénicas que se administran a un paciente pueden caracterizarse por tener una firma antigénica, es decir, una combinación de antígenos o epítopes que son suficientemente específicos de manera que la composición antigénica sea capaz de provocar una respuesta inmunitaria que es específica para un patógeno de *Escherichia coli* particular, tal como una respuesta inmunitaria adaptativa.

Intervalos de dosificación expuestos en el presente documento son a modo de ejemplo solo y no limitan la vía de administración por vía intradérmica o por vía subcutánea e intervalos de dosificación que pueden ser seleccionados por profesionales médicos. La cantidad de células *de Escherichia coli* completamente destruidas en la composición puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo. Las pautas de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas con el tiempo o la dosis puede ser proporcionalmente reducida o aumentada como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. Puede ser ventajoso formular composiciones intradérmicas o subcutáneas en forma unitaria de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación.

En el caso de formulaciones antigénicas (análogas a una vacuna), puede proporcionarse una cantidad inmunogénicamente eficaz de células *de Escherichia coli* completamente destruidas, sola o en combinación con otros compuestos, con un adyuvante inmunológico. Las células *de Escherichia coli* completamente destruidas también pueden estar asociadas con una molécula de vehículo, tal como albúmina de suero bovino o hemocianina de lapa californiana para potenciar la inmunogenicidad. Una composición antigénica ("vacuna") es una composición que incluye materiales que provocan una respuesta inmunitaria deseada. Una composición antigénica puede seleccionar, activar o expandir, sin limitación: linfocitos B, T de memoria, neutrófilos, monocitos o macrófagos del sistema inmunitario para, por ejemplo, reducir o eliminar el crecimiento o la proliferación de células cancerosas o tejido. En algunas realizaciones, las células *de Escherichia coli* completamente destruidas, o composiciones de las mismas de la invención, son capaces de provocar la respuesta inmunitaria deseada en ausencia de cualquier otro agente, y, por tanto, puede considerarse que es una composición antigénica. En algunas realizaciones, una composición antigénica incluye un vehículo adecuado, tal como un adyuvante, que es un agente que actúa en las células de *Escherichia coli* completamente destruidas permitiendo la reducción de la cantidad de células de *Escherichia coli* completamente destruidas en cualquier dosis de vacuna dada, o la reducción de la frecuencia de dosificación requerida para generar la respuesta inmunitaria deseada.

Una composición antigénica que comprende bacterias *Escherichia coli* completamente destruidas para administración por inyección intradérmica o subcutánea puede prepararse del siguiente modo. Las bacterias

Escherichia coli pueden cultivarse en medios adecuados, y lavarse con solución salina fisiológica. Las bacterias pueden entonces centrifugarse, resuspenderse en solución salina y destruirse con calor. Las suspensiones pueden ser normalizadas por recuento microscópico directo, mezclarse en cantidades requeridas y guardarse en recipientes apropiados, que pueden probarse para seguridad, estabilidad en almacén y esterilidad de una manera autorizada. Además de la especie bacteriana patógena de *Escherichia coli*, una vacuna bacteriana destruida adecuada para administración a seres humanos pueden incluir 0,4 % de conservante de fenol y/o 0,9 % de cloruro sódico. La vacuna bacteriana de *Escherichia coli* también puede incluir cantidades traza de infusión de cerebro-corazón (ternera), peptonas, extracto de levadura, agar, sangre de oveja, dextrosa, fosfato de sodio y/u otros componentes de medios.

En composiciones antigénicas que comprenden células *de Escherichia coli* completamente destruidas, las concentraciones de especies bacterianas específicas en composiciones para inyección subcutánea o intradérmica pueden ser aproximadamente 1 millón a 100.000 millones de organismos por ml, o pueden ser 100 millones a 7000 millones de organismos por ml, o pueden ser 500 millones a 6000 millones de organismos por ml, o pueden ser 1000 millones a 5000 millones de organismos por ml, o pueden ser 2000 millones a 4000 millones de organismos por ml, o cualquier número entero dentro de estos intervalos. La concentración total de bacterias por ml puede oscilar de 1 millón a 100.000 millones de organismos por ml, o puede ser 50 millones a 7000 millones de organismos por ml, o puede ser 100 millones a 6000 millones de organismos por ml, o puede ser 500 millones a 5000 millones de organismos por ml, o puede ser 1000 millones a 4000 millones de organismos por ml, o cualquier número entero dentro de estos intervalos.

En general, la composición antigénica que comprende células *de Escherichia coli* completamente destruidas de la presente invención debe usarse sin causar toxicidad sustancial. La toxicidad de los compuestos de la invención puede determinarse usando técnicas convencionales, por ejemplo, probando en cultivos celulares o animales experimentales y determinando el índice terapéutico, es decir, la relación entre la DL50 (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DL100 (la dosis letal para el 100 % de la población).

En algunos aspectos, la invención implica el uso de un antiinflamatorio conjuntamente con las vacunaciones. En estas realizaciones, puede emplearse una amplia variedad de tratamientos antiinflamatorios, que incluyen cantidades eficaces de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), que incluyen, pero no se limitan a: diclofenaco potásico, diclofenaco sódico, etodolaco, indometacina, ketorolaco trometamina, sulindaco, tometina sódica, celecoxib, meloxicam, valdecoxib, floctafenina, ácido mefenámico, nabumetona, meloxicam, piroxicam, tenoxicam, fenoprofeno cálcico, flubiprofeno, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, naproxeno sódico, oxaprozina, ácido tiaprofénico, ácido acetilsalicílico, diflunisal, trisalicilato de colina y magnesio, salicilato de colina, salicilato de trietanolamina, inhibidores de COX1, inhibidores de COX2 (por ejemplo, Vioxx™ y Celebrex™). También puede usarse varias hierbas y productos naturales para la salud para proporcionar tratamiento antiinflamatorio, que incluyen, pero no se limita a: té verde, aceite de pescado, vitamina D, vitaminas y minerales antioxidantes (por ejemplo, B-caroteno, vitamina A, vitamina C, vitamina D, vitamina E, co-enzima Q10, selenio, etc.), resveratrol, turmérico, bromelaína, boswellia, matricaria, quercetina, jengibre, romero, orégano, pimienta cayena, clavo, nuez moscada, corteza de sauce. Modalidades antiinflamatorias alternativas también pueden incluir modificaciones del estilo de vida, tales como: ejercicio, pérdida de peso, dejar de fumar, reducción del estrés, búsqueda de apoyo social, tratamiento de depresión, gestión del estrés, trabajo de respiración abdominal y cambio dietético (tal como adoptar una dieta mediterránea, una dieta glucémica baja, comer alimentos no carbonizados, que incluyen alimentos que tienen ácidos grasos omega-3).

Como se detalló en el presente documento, se describe un método de comparación de respuestas inmunitarias. El método implica administrar a un animal que tiene un órgano o tejido un medicamento que tiene una composición antigénica, como se define en el presente documento. La composición antigénica puede tener determinantes antigénicos seleccionados o formulados de manera que juntos los determinantes antigénicos sean específicos para al menos un patógeno microbiano que es patógeno en el órgano o tejido, extrayendo una muestra inmunitaria cuantificable del órgano o tejido, midiendo una característica de la respuesta inmunitaria en el órgano o tejido en la muestra inmunitaria cuantificable tras la administración del medicamento, y, comparando la característica de la respuesta inmunitaria en la muestra inmunitaria cuantificable con una característica correspondiente de la respuesta inmunitaria en una muestra inmunitaria de referencia obtenida de un órgano o tejido correspondiente. Como se usa en el presente documento, una muestra inmunitaria contendría material biológico suficiente para determinar una característica de una respuesta inmunitaria. Como se usa en el presente documento, una "característica" de una respuesta inmunitaria puede incluir, sin limitación, el número particular de un tipo inmunitario particular de célula (por ejemplo, macrófago), o un marcador celular particular (por ejemplo, regulación por incremento de una integrina) o producto génico (por ejemplo, una citocina). Lo anterior se proporciona como un ejemplo y no es limitante.

Opcionalmente, la muestra inmunitaria de referencia puede obtenerse del órgano o tejido correspondiente en el animal antes de la etapa de administrar el medicamento. En otro aspecto, la muestra inmunitaria de referencia puede obtenerse del órgano o tejido correspondiente en un segundo animal de forma que sea específicamente contemplado que al menos dos animales (es decir, un animal del que se obtiene una muestra inmunitaria de referencia y un segundo animal del que se obtiene una muestra inmunitaria cuantificable) puedan ser usados en los métodos descritos en el presente documento. Opcionalmente, el animal puede tener un cáncer situado en el órgano

o tejido.

El comparar la característica de la respuesta inmunitaria puede implicar comparar, en las muestras inmunitarias cuantificables y de referencia, una indicación de los números de una cualquiera o más de las siguientes células ya que estas células son conocidos para aquellos expertos en la materia: monocitos inflamatorios, macrófagos, células CD11b+ Gr-1+, células dendríticas, células MHC de clase II+ CD11c+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o células NK. Opcionalmente, los macrófagos pueden incluir uno cualquiera o más de los siguientes: macrófagos similares a M1 o macrófagos similares a M2.

Aquellos expertos en la materia apreciarán que los macrófagos pueden definirse como o bien "macrófagos similares a M1" o "macrófagos similares a M2". Por ejemplo, se entiende generalmente por aquellos expertos en la materia que los macrófagos similares a M1 promueven una respuesta mediada por linfocitos T Th1 CD4+ (véase, por ejemplo, Biswas y Mantovani (2010), Nature Immunology 10:889-96). Además, se entiende generalmente que los macrófagos similares a M1 tienen capacidad de presentación de antígenos eficiente, y son competentes en la destrucción de patógenos intracelulares (por ejemplo, virus). Además, se entiende generalmente que los macrófagos similares a M1 son competentes, al menos en comparación con los macrófagos similares a M2, en desempeñar una función inmunológica en la destrucción tumoral. Aquellos expertos en la materia apreciarán que hay numerosos marcadores biológicos que pueden emplearse para diferenciar entre macrófagos similares a M1 y macrófagos similares a M2. Por ejemplo, y como se detalla en el presente documento, se entiende generalmente que la expresión de Nos2 se correlaciona con un macrófago similar a M1 en comparación con un macrófago similar a M2 (véase, por ejemplo, Laskin et al. (2010) Annual Rev. Pharmacol. Toxicol. 51: 267-288). Además, y por ejemplo, se entiende generalmente que los macrófagos similares a M1 producen IL-12 y son eficazmente activados por IFN-γ mediante los IFN- γR (Biswas y Mantovain, arriba).

A diferencia de los macrófagos similares a M1, aquellos expertos en la materia generalmente entenderán que los macrófagos similares a M2 promueven una respuesta mediada por linfocitos T Th2 CD4+ (véase, generalmente: Biswas y Mantovani (2010), Nature Immunology 10:889-96). Además, se entiende generalmente que los macrófagos similares a M2 son eficaces y que encapsulan y eliminan parásitos extracelulares, etc. Además, y en comparación con los macrófagos similares a M1, se entiende generalmente por aquellos expertos en la materia que los macrófagos similares a M2 desempeñan una función más significativa en la inmunorregulación tanto con respecto a linfocitos T_{reg} como B (Biswas y Mantovain, arriba). Aquellos expertos en la materia apreciarán que hay numerosos marcadores biológicos que pueden ser empleados para diferenciar entre macrófagos similares a M2 y macrófagos similares a M1. Por ejemplo, y como se describe en el presente documento, generalmente se entenderá que una expresión reducida de Nos2 se correlaciona con macrófagos similares a M2 en comparación con la expresión más alta que es generalmente encontrada en macrófagos similares a M1. Además, y como se detalla en los experimentos en el presente documento, se entiende generalmente que la expresión de CD206 se correlaciona con macrófagos similares a M2 (véase, por ejemplo, Choi et al. (2010) Gastroenterology 138(7) 2399-409). Además, y como se detalla en los experimentos en el presente documento, se entiende generalmente que la expresión de F4/80 se correlaciona con macrófagos similares a M2. Además, y por ejemplo, se entiende generalmente que los macrófagos similares a M2 son eficazmente activados por IL-4 o por IL-13 mediante IL-4Rα (Biswas y Mantovain, arriba).

Además, el comparar la característica de la respuesta inmunitaria puede implicar comparar un desplazamiento en un estado de activación de macrófagos. El desplazamiento en el estado de activación de macrófagos puede caracterizarse opcionalmente como un desplazamiento de macrófagos similares a M2 a macrófagos similares a M1, o viceversa. Aquellos expertos en la materia apreciarán que hay numerosos marcadores biológicos que pueden emplearse para monitorizar la activación de macrófagos. Como se detalla en el presente documento, aquellos expertos en la materia apreciarán que la definición de un macrófago como que es activado hacia o bien un fenotipo similar a M1 o bien un fenotipo similar a M2 puede llevarse a cabo eligiendo marcadores que son conocidos por asociarse con cualquiera de los fenotipos respectivos descritos en el presente documento. Enfermedades que se han asociado a macrófagos M1 y M2 incluyen al menos las siguiente: aterosclerosis (véase, por ejemplo, Hirata et al. (2011) J. Am. Coll. Cardiol. 58(3): 248-255), asma alérgica (véase, por ejemplo, Moreira y Hogaboam (2011) J. Interferon. Cytokine Res. 31(6): 485-91), prostatitis autoinmunitaria (véase, por ejemplo, Zhang y Schluesener (2011) Prostate), colitis (véase, por ejemplo, Waddell et al. (2011) J. Immunol. 186(10): 5993-6003), EPOC (véase, por ejemplo, Kunz et al. (2011) Respir. Res. 22: 34), glomerulonefritis (véase, por ejemplo, Fujita et al. (2010) Am. J. Patol. 177(3): 1143-54), enfermedad inflamatoria del intestino (véase, por ejemplo, Wendelsdorf et al. (2010) J. Theor. Biol. 264(4): 1225-39), inflamación pulmonar crónica (véase, por ejemplo, Redente et al. (2010) J. Leukoc. Biol. 88(1): 159-68), esteatohepatitis (véase, por ejemplo, Rensen et al. (2009) Am. J. Pathol. 175(4): 1473-82), pancreatitis (véase, por ejemplo, Gea-Sorli y Closa (2009) BMC Immunol. 31: 42), miocarditis (véase, por ejemplo, Li et al. (2009) Circ. Res. 105(4): 353-64), fibrosis hepática (véase, por ejemplo, Heymann et al. (2009) Inflamm. Allergy Drug Targets 8(4): 307-18), fibrosis quística (véase, por ejemplo, Meyer et al. (2009) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 41(5): 590-602), enfermedad renal inflamatoria (véase, por ejemplo, Wang et al. (2007) Kidney Int. 72(3): 290-299) y silicosis (véase, por ejemplo, Misson et al. (2004) J. Leukoc. Biol. 76(5): 926-232).

Opcionalmente, el comparar la característica de la respuesta inmunitaria puede implicar identificar, en las muestras inmunitarias cuantificables y de referencia, marcadores celulares en una cualquiera o más de las siguientes células

como es comúnmente entendido por aquellos expertos en la materia: monocitos inflamatorios, macrófagos, células CD11b+ Gr-1+, células dendríticas, células MHC de clase II+ CD11c+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o células NK. Los macrófagos pueden incluir uno cualquiera o más de los siguientes: macrófagos similares a M1 o macrófagos similares a M2. Un experto en la materia apreciará que hay numerosos marcadores de célula (tanto extracelulares como intracelulares) que pueden seleccionarse que pueden identificar una respuesta inmunitaria. Por ejemplo, como se describe en el presente documento, se entiende generalmente que el marcador CD206 se correlaciona con macrófagos similares a M2 (véase, por ejemplo, Choi et al. (2010) Gastroenterology 138(7) 2399-409).

Opcionalmente, el comparar la característica de la respuesta inmunitaria puede implicar identificar, en las muestras inmunitarias cuantificables y de referencia, citocinas producidas por una cualquiera o más de las siguientes células como es comúnmente entendido por aquellos expertos en la materia: monocitos inflamatorios, macrófagos, células CD11b+ Gr-1+, células dendríticas, células MHC de clase II+ CD11c+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o células NK. Aquellos expertos en la materia apreciarán que citocinas se refiere a moléculas de proteína de señalización de células pequeñas y que hay numerosas citocinas conocidas en la técnica. Por ejemplo, las citocinas se han agrupado en clasificaciones de tipo 1 y de tipo 2 basándose en su función en respuestas inmunológicas. Las citocinas de tipo 1 comunes incluyen IFN-γ y TGF-β. Las citocinas de tipo 2 comunes incluyen, pero no se limitan a, IL-4 e IL-13. Las citocinas pueden ser detectadas por numerosas metodologías conocidas para aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, se utilizaron experimentos de ELISA para determinar la producción de citocinas de tejido de pulmón.

Como se detalla en el presente documento, los macrófagos pueden incluir uno cualquiera o más de los siguientes: macrófagos similares a M1 o macrófagos similares a M2 como se ha definido en el presente documento. Opcionalmente, las citocinas se producen como resultado de un desplazamiento en un estado de activación de los macrófagos. Opcionalmente, los macrófagos se desplazan de ser macrófagos similares a M2 a ser macrófagos similares a M1. Adicionalmente y opcionalmente, los macrófagos se desplazan de ser macrófagos similares a M1 a ser macrófagos similares a M2.

Opcionalmente, el comparar la característica de la respuesta inmunitaria puede implicar identificar, en las muestras inmunitarias cuantificables y de referencia, la expresión génica diferencial producida por una cualquiera o más de las siguientes células como es comúnmente entendido por aquellos expertos en la materia: monocitos inflamatorios, macrófagos, células CD11b+ Gr-1+, células dendríticas, células MHC de clase II+ CD11c+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o células NK. Los macrófagos pueden incluir uno cualquiera o más de los siguientes: macrófagos similares a M1 o macrófagos similares a M2. El término "expresión génica diferencial" se entiende que significa una diferencia apreciable entre la expresión de un gen particular de interés de al menos dos condiciones experimentales. Por ejemplo, si bajo una primera condición experimental un gen particular tiene un nivel de expresión definido como se define por los métodos de expresión génica usados por aquellos expertos en la materia y si bajo una segunda condición experimental el mismo gen tiene una diferencia apreciable en su nivel de expresión, entonces hay expresión diferencial del gen de interés. Aquellos expertos en la materia entenderán que hay numerosas metodologías con las que detectar la expresión génica diferencial. Por ejemplo, pueden usarse técnicas de PCR cuantitativas comercialmente disponibles con respecto a la determinación de las relaciones Nos2/Arg1 relativas. Opcionalmente, la expresión génica diferencial se produce como resultado de un desplazamiento en un estado de activación de los macrófagos. Opcionalmente, los macrófagos pueden desplazarse de ser macrófagos similares a M2 a ser macrófagos similares a M1, como aquellos términos se han definido en el presente documento.

Según la presente invención como se define por la reivindicación 1, la composición antigénica que comprende determinantes antigénicos que juntos son específicos para al menos una *Escherichia coli* que es patógena en la región del GIT puede administrarse por vía intradérmica o por vía subcutánea en un sitio de administración en dosis sucesivas administradas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de la dosificación de al menos una semana. La composición antigénica se administra en una forma farmacéutica de manera que cada forma farmacéutica sea eficaz para producir una inflamación localizada visible en el sitio de administración en el plazo de 1 a 48 horas. Aquellos expertos en la materia apreciarán que hay otros métodos por los que la generación de una respuesta inmunitaria puede monitorizarse. Por ejemplo, el perfil (y cambio relativo en la caracterización) de células inmunitarias de un sujeto que experimenta una reacción inmunitaria puede compararse con aquél de un sujeto que no está experimentando una reacción inmunitaria.

En diversos aspectos, las realizaciones de la invención se refieren a composiciones antigénicas que comprenden células de *Escherichia coli* completamente destruidas que pueden producir infecciones del tubo gastrointestinal, de manera que el organismo puede caracterizarse como un patógeno. Sin embargo, un organismo que es en algunos casos patógeno puede no siempre producir enfermedad. La mayoría de los animales son colonizados a cierto grado por otros organismos, tales como bacterias, que generalmente existen en relaciones simbióticas o comensales con el animal hospedador. Así, muchas especies de bacterias normalmente inocuas se encuentran en animales sanos, y normalmente están localizadas en la superficie de órganos y tejidos específicos. Frecuentemente, estas bacterias ayudan en el funcionamiento normal del cuerpo. Por ejemplo, en seres humanos, las bacterias simbióticas *Escherichia coli* pueden encontrarse en el intestino, donde promueven la inmunidad y reducen el riesgo de infección con patógenos más virulentos.

Bacterias que son generalmente inocuas, tales como *Escherichia coli,* pueden producir infección en sujetos sanos, con resultados que oscilan de infección de leve a grave a muerte. Tanto si un organismo, tal como una bacteria, es o no patógeno (es decir, produce infección) depende de algún modo de factores tales como la vía de entrada y acceso a células hospedadoras específicas, tejidos u órganos; la virulencia intrínseca de la bacteria; la cantidad de bacterias presentes en el sitio de posible infección; o la salud del animal hospedador. Así, organismos que normalmente son inocuos pueden llegar a ser patógenos dadas condiciones favorables para la infección, e incluso organismos virulentos pueden requerir circunstancias específicas para producir infección. Por consiguiente, organismos que son miembros de la flora normal pueden ser patógenos cuando van más allá de su función ecológica normal en la flora endógena. Por ejemplo, especies endógenas pueden producir infección fuera de su nicho ecológico en regiones de proximidad anatómica, por ejemplo por diseminación contigua. Cuando esto se produce, y en el contexto de la presente invención, estos organismos endógenos normalmente inocuos se consideran patógenos.

Se sabe que los organismos específicos, tales como virus de especies bacterianas, gusanos y protozoos, producen infecciones en regiones específicas del GIT en sujetos por lo demás sanos. Ejemplos de organismos que comúnmente producen infecciones en regiones específicas del GIT se enumeran a continuación; se entenderá que estos ejemplos no pretenden ser limitantes y que un experto sería capaz de reconocer e identificar fácilmente organismos infecciosos o patógenos que producen infecciones, o producen comúnmente infecciones, en diversas regiones del GIT en adultos sanos, basándose, por ejemplo, en el conocimiento sobre las poblaciones particulares de pacientes, como se representa, por ejemplo, por las siguientes publicaciones: Manual of Clinical Microbiology 8th Edition, Patrick Murray, Ed., 2003, ASM Press American Society for Microbiology, Washington DC, USA; Mandell, Douglas, y Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 5th Edition, G. L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, Eds., 2000, Churchill Livingstone, Philadelphia, PA, EE.UU.

Las infecciones de la boca son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Prevotella melaninogenicus*, estreptococos anaerobios, estreptococos viridans, *Actinomyces* spp., *Peptostreptococcus* spp., o *Bacteroides* spp., u otros anaerobios orales; o patógenos virales: herpes simple, virus de Coxsackie o Epstein-Barr.

Infecciones del esófago son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Actinomyces* spp., *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis* o *Streptococcus* spp.; o patógenos virales: citomegalovirus, herpes simple o varicela-zóster.

Infecciones del estómago son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes* o *Helicobacter pylori*; o patógenos virales: citomegalovirus, herpes simple, Epstein-Barr, rotavirus, norovirus o adenovirus.

Infecciones del intestino delgado son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Clostridium difficile, Bacteroides fragilis, Bacteroides vulgatus, Bacteroides thetaiotaomicron*, *Clostridium perfringens, Salmonella enteriditis, Yersinia enterocolitica* o *Shigella flexneri*; o patógenos virales: adenovirus, astrovirus, calicivirus, norovirus, rotavirus o citomegalovirus.

Infecciones del colon/recto son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli, Clostridium difficile, Bacteroides fragilis, Bacteroides vulgatus, Bacteroides thetaiotaomicron, Clostridium perfringens, Salmonella enteriditis, Yersinia enterocolitica* o *Shigella flexneri*; o patógenos virales: adenovirus, astrovirus, calicivirus, norovirus, rotavirus o citomegalovirus.

Infecciones del ano son comúnmente producidas por las siguientes especies bacterianas: *Streptococcus pyogenes*, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., estreptococos anaerobios, *Clostridium* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa* o *Treponema pallidum*; o patógenos virales: herpes simple.

Organismos tales como bacterias se clasifican frecuentemente operacionalmente como colecciones de cepas similares (que generalmente se refieren a grupos de supuesto linaje común con distinciones fisiológicas identificables, pero normalmente no morfológicas, y que pueden identificarse usando técnicas serológicas contra antígenos de superficie bacterianos). Así, cada especie bacteriana (por ejemplo, *Escherichia coli*) tiene numerosas cepas (o serotipos), que pueden diferenciarse en su capacidad para producir infección o diferir en su capacidad para producir infección en un órgano/sitio particular. Es más probable que ciertas cepas de *Escherichia coli* produzcan infección gastrointestinal/diarrea, que incluye *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* productora de la toxina Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* de adherencia difusa (DAEC). Según la presente invención, una o más de una cepa de ETEC, EPEC, EHEC, STEC, EAEC, EIEC o DAEC de *E. coli* (es decir, cepas que producen infección de colon) puede elegirse para una formulación para tratar y EII.

Similarmente, puede haber numerosos subtipos de virus específicos, gusanos o protozoos, que están asociados con enfermedad en una población particular.

Las composiciones de la invención incluyen células *de Escherichia coli* completamente destruidas que son

patógenas en una región específica del GIT. Las composiciones también pueden incluir uno o más antígenos aislados de estos organismos. Los organismos patógenos pueden estar comercialmente disponibles (por ejemplo, de la Colección Americana de Cultivos Tipo, Manassas, VA, EE.UU.), o puede ser cepas aisladas clínicas de sujetos que tienen una infección.

Las composiciones de la invención derivadas de patógenos pueden proporcionarse solas o en combinación con otros compuestos (por ejemplo, moléculas de ácidos nucleicos, moléculas pequeñas, péptidos, o análogos de péptidos), en presencia de un liposoma, un adyuvante, o cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable, en una forma adecuada para administración a mamíferos, por ejemplo, seres humanos. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y similares, que son fisiológicamente compatibles. El vehículo puede ser adecuado para administración subcutánea o intradérmica. Vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles o dispersión. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es muy conocido en la técnica. Excepto en la medida de que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con las células *de Escherichia coli* completamente destruidas, se contempla el uso del mismo en las composiciones farmacéuticas de la invención. También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios en las composiciones.

Métodos muy conocidos en la técnica de producción de formulaciones se encuentran en, por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" (20ª edición), ed. A. Gennaro, 2000, Mack Publishing Company, Easton, PA. Las formulaciones para administración parenteral pueden contener, por ejemplo, excipientes, agua estéril o solución salina, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal o naftalenos hidrogenados. Pueden usarse polímero de lactida biodegradable biocompatible, copolímero de lactida/glicolida o copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno para controlar la liberación de los compuestos. Otros sistemas de administración parenteral posiblemente útiles incluyen partículas de copolímeros de etileno-acetato de vinilo, bombas osmóticas, sistemas de infusión implantables y liposomas. Para composiciones terapéuticas o profilácticas, las formulaciones pueden administrarse a un individuo en una cantidad eficaz para detener o ralentizar la progresión de la EII.

Una "cantidad eficaz" de células *de Escherichia coli* completamente destruidas según la invención incluye una cantidad terapéuticamente eficaz o una cantidad profilácticamente eficaz. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado, tal como reducción o eliminación de los síntomas de la EII. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una especie patógena o antígeno(s) de la misma puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad del compuesto para provocar una respuesta deseada en el individuo. Las pautas de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Una cantidad terapéuticamente eficaz también puede ser una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de las células *de Escherichia coli* completamente destruidas sea superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado, tal como la prevención de la EII. Normalmente, una dosis profiláctica se usa en sujetos antes de o en una fase más temprana de la EII, de manera que una cantidad profilácticamente eficaz pueda ser inferior a una cantidad terapéuticamente eficaz.

Para administración por inyección subcutánea o intradérmica, un intervalo a modo de ejemplo para cantidades terapéuticamente o profilácticamente eficaces de las células *de Escherichia coli* completamente destruidas puede ser aproximadamente 1 millón a 100.000 millones de organismos por ml, o puede ser 100 millones a 7000 millones de organismos por ml, o puede ser 500 millones a 6000 millones de organismos por ml, o puede ser 1000 millones a 5000 millones de organismos por ml, o puede ser 2000 millones a 4000 millones de organismos por ml, o cualquier número entero dentro de estos intervalos. La concentración total de bacterias por ml puede oscilar de 1 millón a 100.000 millones de organismos por ml, o puede ser 50 millones a 7000 millones de organismos por ml, o puede ser 100 millones a 6000 millones de organismos por ml, o puede ser 500 millones a 5000 millones de organismos por ml, o puede ser 1000 millones a 4000 millones de organismos por ml, o cualquier número entero dentro de estos intervalos. El intervalo para cantidades terapéuticamente o profilácticamente eficaces de antígenos de una especie de bacterias patógenas pueden ser cualquier número entero de 0,1 nM-0,1 M, 0,1 nM-0,05 M, 0,05 nM-15 µM o 0,01 nM-10 µM.

Debe observarse que las concentraciones e intervalos de dosificación pueden variar con la gravedad de la afección que va a aliviarse, o pueden variar con la respuesta inmunitaria del sujeto. En general, el objetivo es lograr una respuesta inmunitaria adecuada. Para administración por infección subcutánea o intradérmica, el grado de una respuesta inmunitaria puede determinarse, por ejemplo, por el tamaño de la reacción de la piel inmunitaria local retardada en el sitio de inyección (por ejemplo, de 0,25 pulgadas a 4 pulgadas (0,635 cm a 10,2 cm) de diámetro). La dosis requerida para lograr una respuesta inmunitaria apropiada puede variar dependiendo del individuo (y su sistema inmunitario) y la respuesta deseada. También pueden usarse dosificaciones normalizadas.

En el contexto de la administración subcutánea o intradérmica, si el objetivo es lograr una reacción de la piel local de 2 pulgadas (5,1 cm), usando una composición antigénica que comprende células de *Escherichia coli* completamente

destruidas, la dosis total puede oscilar, por ejemplo, de 2 millones de bacterias (por ejemplo, 0,001 ml de una vacuna con una concentración de 2.000 millones de organismos por ml) a más de 20.000 millones de bacterias (por ejemplo, 1 ml de una vacuna con una concentración de 20.000 millones de organismos por ml). También pueden considerarse las concentraciones de células *de Escherichia coli* completamente destruidas dentro de una composición. Por ejemplo, si la concentración de células *de Escherichia coli* completamente destruidas, el tamaño de células de esa especie o carga antigénica de la misma es mucho mayor con respecto a las otras especies de bacterias patógenas en la vacuna, entonces la reacción de la piel inmunitaria local de un individuo puede ser probablemente debida a su respuesta a esta especie bacteriana específica. En algunas realizaciones, el sistema inmunitario de un individuo puede responder más fuertemente a una especie bacteriana dentro de una composición que otra, dependiendo, por ejemplo, de la historia pasada de exposición a infección por una especie particular, así la dosificación o composición puede ajustarse por consiguiente para ese individuo.

Para cualquier sujeto particular, el momento preciso y la dosis de tratamientos pueden ajustarse con el tiempo (por ejemplo, el momento preciso puede ser diariamente, cada dos días, semanalmente, mensualmente) según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o que supervisa la administración de las composiciones. Por ejemplo, en el contexto de la administración subcutánea o intradérmica, las composiciones pueden administrarse cada dos días. Una dosis inicial de aproximadamente 0,05 ml puede administrarse por vía subcutánea, seguido de aumentos de 0,01-0,02 ml cada dos días hasta que se logre una reacción de la piel adecuada en el sitio de inyección (por ejemplo, a 1 pulgada a 2 pulgadas (2,54 a 5,1 cm) de diámetro de reacción de retardada de rojez visible en el sitio de inyección). Una vez se logra esta reacción inmunitaria adecuada, esta dosificación continúa como una dosis de mantenimiento. La dosis de mantenimiento puede ajustarse de vez en cuando para lograr la reacción de la piel visible deseada (inflamación) en el sitio de inyección. La dosificación puede ser para una duración de dosificación, por ejemplo de al menos 2 semanas, 2 meses, 6 meses, 1, 2, 3, 4 o 5 años o más.

En algunas realizaciones, la invención puede incluir composiciones antigénicas administradas a uno o más tejidos epiteliales por una vía intradérmica o subcutánea. Por ejemplo: a piel por inyección intradérmica o subcutánea. Por consiguiente, en algunas realizaciones, las composiciones antigénicas de la invención se administran de manera que se provoque una respuesta inmunitaria en un tejido no entérico, tal como un tejido epitelial. En algunas realizaciones, una o más vías de administración no entéricas pueden combinarse con una o más vías de administración adicionales, tales como administración intramuscular o intravenosa.

En diversos aspectos de la invención, las composiciones antigénicas que se administran a un paciente pueden caracterizarse por tener una firma antigénica, es decir, una combinación de antígenos o epítopes, que es suficientemente específica tal que la composición antigénica es capaz de provocar una respuesta inmunitaria que es específica para una *Escherichia coli* particular, tal como una respuesta inmunitaria adaptativa.

La cantidad de células *de Escherichia coli* completamente destruidas en composiciones de la invención puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo. Las pautas de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas con el tiempo o la dosis puede ser proporcionalmente reducida o aumentada como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. Puede ser ventajoso formular composiciones parenterales en forma unitaria de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación.

En el caso de formulaciones antigénicas (análogas a una vacuna), puede proporcionarse una cantidad inmunogénicamente eficaz de células *de Escherichia coli* completamente destruidas, sola o en combinación con otros compuestos, con un adyuvante inmunológico. Las células *de Escherichia coli* completamente destruidas también pueden estar asociadas con una molécula de vehículo, tal como albúmina de suero bovino o hemocianina de lapa californiana para potenciar la inmunogenicidad. Una composición antigénica ("vacuna") es una composición que incluye materiales que provocan una respuesta inmunitaria deseada. Una composición antigénica puede seleccionar, activar o expandir linfocitos B, T de memoria, neutrófilos, monocitos o macrófagos del sistema inmunitario para, por ejemplo, reducir o eliminar los síntomas de la EII. En algunas realizaciones, las células de *Escherichia coli* completamente destruidas, o composiciones de las mismas de la invención, son capaces de provocar la respuesta inmunitaria deseada en ausencia de cualquier otro agente, y puede considerarse, por tanto, que son una composición antigénica. En algunas realizaciones, una composición antigénica incluye un vehículo adecuado, tal como un adyuvante, que es un agente que actúa de una manera no específica para aumentar la respuesta inmunitaria a un antígeno específico, o a un grupo de antígenos, permitiendo la reducción de la cantidad de antígeno en cualquier dosis de vacuna dada, o la reducción de la frecuencia de dosificación requerida para generar la respuesta inmunitaria deseada. La composición antigénica bacteriana incluye bacterias muertas capaces de inducir una respuesta inmunitaria contra determinantes antigénicos normalmente asociados a las bacterias.

Una composición antigénica que comprende células de *Escherichia coli* completamente destruidas para administración intradérmica o subcutánea mediante inyección puede prepararse del siguiente modo. El organismo puede cultivarse en medios adecuados, y lavarse con solución salina fisiológica. El organismo puede entonces centrifugarse, resuspenderse en solución salina y destruirse con calor. Las suspensiones pueden ser normalizadas

por recuento microscópico directo, mezclarse en cantidades requeridas y almacenarse en recipientes apropiados, que pueden ser probados para seguridad, estabilidad en almacén y esterilidad de una manera autorizada. Además del organismo y/o antígenos del mismo, una preparación destruida adecuada para administración a seres humanos puede incluir conservante de fenol (por ejemplo 0,4 %) y/o cloruro sódico (por ejemplo del orden del 0,9 %). La composición puede también, por ejemplo, incluir cantidades traza de infusión de cerebro-corazón (ternera), peptonas, extracto de levadura, agar, sangre de oveja, dextrosa, fosfato de sodio y/u otros componentes de medio.

En general, las composiciones de la invención deben usarse sin causar toxicidad sustancial. La toxicidad de los compuestos de la invención puede determinarse usando técnicas convencionales, por ejemplo, probando en cultivos celulares o animales experimentales y determinando el índice terapéutico, es decir, la relación entre la DL50 (la dosis letal para el 50 % de la población) y la DL100 (la dosis letal para el 100 % de la población).

Las filas de la Tabla 1 enumeran varias especies bacterianas junto con las regiones biológicas, en donde cada especie puede formar una parte de la flora endógena. Por ejemplo, *Abiotrophia* spp. son normalmente miembros de la flora endógena de la boca.

Tabla 1: Flora normal bacteriana humana (patógenos humanos bacterianos endógenos)

Especies bacterianas	Boca	Estómago	Duodeno/yeyuno	Íleon	Colon
CFL /ml	10^5	10^2	10^2	10^8	10^11
Abiotrophia spp	+				
Acholeplasma laidlawii	+				
Acidaminococcus fermentans	+		+	+	+
Acinetobacter spp.	+		+	+	+
Actinobacillus spp.	+				
Actinobaculum spp.	+		+	+	+
Actinomyces spp.	+		+	+	+
Aeromonas spp.			+	+	+
Anaerorhabdus furcosus				+	+
Anaerococcus hydrogenalis				+	+
Anaerococcus lactolyticus				+	+
Anaerococcus prevotii				+	+
Atopobium spp.	+		+	+	+
Bacillus spp.				+	+
Bacteroides caccae				+	+
Bacteroides distasonis				+	+
Bacteroides eggerthii				+	+
Bacteroides fragilis				+	+
Bacteroides merdae				+	+
Bacteroides ovatus				+	+
Bacteroides splanchnicus				+	+
Bacteroides thetaiotaomicron				+	+
Bacteroides vulgatus				+	+
Bifidobacterium adolescentis			+	+	+
Bifidobacterium bifidum			+	+	+
Bifidobacterium breve			+	+	+
Bifidobacterium catenulatum			+	+	+
Bifidobacterium dentium	+		+	+	+
Bifidobacterium longum			+	+	+
Bilophila wadsworthia	+		+	+	+
Burkholderia cepacia			+	+	+
Butyrivibrio fibrisolvens			+	+	+

(continuación)

Especies bacterianas	Boca	Estómago	Duodeno/yeyuno	Íleon	Colon
Campylobacter concisus			+	+	+
Campylobacter curvus			+	+	+
Campylobacter gracilis			+	+	+
Campylobacter jejuni			+	+	+
Campylobacter rectus			+	+	+
Campylobacter showae	+		+	+	+
Campylobacter sputorum	+				
Capnocytophaga granulosum	+				
Capnocytophaga gingivalis	+				
Campylobacter haemolytica	+				
Capnocytophaga ochracea	+		+	+	+
Capnocytophaga sputigena	+				
Cardiobacterium hominis	+				
Cedecea spp					+
Centipeda periodontii	+				
Citrobacter freundii			+	+	+
Citrobacter koseri			+	+	+
Clostridium spp.			+	+	+
Corynebacterium accolens	+				
Corynebacterium afermentans	+				
Desulfomonas pigra			+	+	+
Dysgonomonas spp.			+	+	+
Eikenella corrodens	+		+	+	+
Enterobacter aerogenes			+	+	+
Enterobacter cloacae			+	+	+
Enterobacter gergoviae			+	+	+
Enterobacter sakazakii			+	+	+
Enterobacter taylorae			+	+	+
Enterococcus spp.			+	+	+
Escherichia coli			+	+	+
Escherichia fergusonii			+	+	+
Escherichia hermannii			+	+	+
Escherichia vulneris			+	+	+
Eubacterium spp.	+		+	+	+
Ewingella americana	+				
Finegoldia magnus			+	+	+
Fusobacterium alocis	+				
Fusobacterium gonidiaformans			+	+	+
Fusobacterium mortiferum			+	+	+
Fusobacterium naviforme			+	+	+
Fusobacterium necrophorum	+		+	+	+
Fusobacterium nucleatum	+				
Fusobacterium sulci	+				
Fusobacterium russii			+	+	+
Fusobacterium varium			+	+	+
Gardnerella vaginalis			+	+	+

(continuación)

Especies bacterianas	Boca	Estómago	Duodeno/yeyuno	Íleon	Colon
Gemella haemolysans	+				
Gemella morbillorum	+		+	+	+
Globicatella spp.	+				+
Granulicatella spp.	+				
Haemophilus spp.	+				
Hafnia alvei			+	+	+
Helcococcus kunzii					
Helicobacter spp.			+	+	+
Kingella spp.	+				
Klebsiella spp.	+		+	+	+
Lactobacillus acidophilus	+	+	+	+	+
Lactobacillus breve	+				
Lactobacillus casei	+				
Lactobacillus fermentum	+	+	+	+	+
Lactobacillus reuteri		+	+	+	+
Lactobacillus salivarius	+	+	+	+	+
Leclercia adecarboxylata			+	+	+
Leminorella spp.			+	+	+
Leptotrichia buccalis	+				
Megasphaera elsdenii			+	+	+
Micrococcus luteus	+				
Micrococcus lylae	+				
Micromonas micros	+				
Mitsuokella multiacidus			+	+	+
Mobiluncus curisii			+	+	+
Mobiluncus mulieris			+	+	+
Moellerella wisconsensis			+	+	+
Moraxella catarrhalis	+				
otras Moraxella spp.	+				
Morganella morganii			+	+	+
Mycoplasma buccale	+				
Mycoplasma fermentans	+				
Mycoplasma hominis	+				
Mycoplasma lipophilum	+				
Mycoplasma orale	+				
Mycoplasma pneumoniae	+				
Mycoplasma salivarium	+				
Pantoea agglomerans			+	+	+
Pasteurella multocida	+				
Pediococcus spp.	+				+
Peptoniphilus asaccharolyticus			+	+	+
Peptostreptococcus anaerobius	+		+	+	+
Peptostreptococcus productus			+	+	+
Porphyromonas asaccharolytica	+		+	+	+
Porphyromonas catoniae	+		+		
Porphyromonas endodontalis	+		+		
Porphyromonas gingivalis	+		+		

(continuación)

Especies bacterianas	Boca	Estómago	Duodeno/yeyuno	Íleon	Colon
Prevotella buccae	+		+		
Prevotella buccalis	+		+		
Prevotella corporis	+		+		
Prevotella dentalis	+		+		
Prevotella denticola	+		+		
Prevotella enoeca	+		+		
Prevotella heparinolytica	+		+		
Prevotella intermedia	+		+		
Prevotella loescheii	+		+		
Prevotella melaninogenica	+		+		
Prevotella nigrescens	+		+		
Prevotella oralis	+		+		
Prevotella oris	+		+		
Prevotella oulorum	+		+		
Prevotella tannerae	+		+		
Prevotella veroralis	+		+		
Prevotella zoogleoformans	+		+		
Propionibacterium propionicum	+				
Proteus mirabilis				+	+
Proteus penneri				+	+
Proteus vulgaris				+	+
Providencia rettgeri				+	+
Providencia stuartii			+	+	+
Pseudomonas aeruginosa			+	+	+
Retortamonas intestinalis			+	+	+
Rothia dentocariosa	+				
Rothia mucilaginosa	+				
Ruminococcus productus			+	+	+
Selenomonas spp.	+				
Serratia liquefaciens				+	+
Serratia marcescens				+	+
Serratia odorifera				+	+
Staphylococcus aureus	+				
Staphylococcus epidermidis	+				
Streptococcus agalactiae			+	+	+
Streptococcus anginosus	+		+	+	+
Streptococcus bovis			+	+	+
Streptococcus constellatus	+		+	+	+
Streptococcus criceti	+				
Streptococcus crista	+				
Streptococcus equisimilis	+				
Streptococcus gordonii	+				
Streptococcus intermedius	+			+	+
Streptococcus mitis	+	+			
Streptococcus mutans	+				
Streptococcus oralis	+				
Streptococcus parasanguis	+				

(continuación)

Especies bacterianas	Boca	Estómago	Duodeno/yeyuno	Íleon	Colon
Streptococcus pyogenes	+	+			
Streptococcus salivarius	+	+			
Streptococcus sanguis	+	+			
Streptococcus sobrinus	+				
Streptococcus vestibularis	+				
Estreptococos del grupo C + G	+				+
Succinivibrio dextrinosolvens			+	+	+
Sutterella spp.	+			+	+
Suttonella indologenes	+				
Tissierella praeacuta			+	+	+
Treponema denticola	+				
Treponema maltophilum	+				
Treponema socranskii	+				
Treponema vincentii	+				
Ureaplasma urealyticum	+				
Veillonella spp.	+		+	+	+

La flora microbiana endógena, tal como bacterias, tiene acceso a tejidos para la patogénesis bien mediante diseminación contigua o bien mediante diseminación bacterémica. En condiciones favorables, todos los organismos endógenos pueden llegar a ser patógenos e invadir localmente y diseminarse por diseminación contigua a tejidos y órganos adyacentes. La flora bacteriana endógena de la piel, boca y colon son las especies que son entendidas por también ser susceptibles a diseminación bacterémica. Las bacterias que son miembros de un dominio de flora endógena particular pueden, por tanto, producir infección en tejidos u órganos a los que estas bacterias pueden diseminar. Por consiguiente, un aspecto de la invención implica el uso de células de *Escherichia coli* completamente destruidas para tratar una EII que tiene síntomas localizados en una región del GIT en la que las bacterias endógenas pueden diseminar para producir infección. Las columnas de la Tabla 2 enumeran dominios para la flora endógena. Las filas de la Tabla 2 enumeran regiones del GIT dentro de las que la EII puede estar situada. Por consiguiente, un aspecto de la invención implica el uso de células de *Escherichia coli* completamente destruidas para formular composiciones antigénicas o la selección de formulaciones existentes que tienen los patógenos, para tratar una EII situada en la región del GIT a la que el patógeno puede diseminar para producir una infección. Por consiguiente, en realizaciones alternativas, una EII que es sintomática en la región enumerada en la primera columna de la Tabla 2 puede tratarse con composiciones antigénicas que comprenden determinantes antigénicos que son específicos para al menos una *Escherichia coli* que son miembros de la flora endógena de uno o más de los dominios de flora endógena enumerados en la primera fila de la Tabla 2 e indicados con X o una marca de verificación en la fila apropiada.

Tabla 2: Patogenicidad de tejidos/órganos de la flora endógena

Sitio de tejido/ órgano	Boca	Estómago	Duodeno/yeyuno	Íleon	Colon
Oral	x				
Amígdala	x				
Nasofaringe/seno	x				
Esófago		x			
Estómago		x			
Intestino delgado			x	x	
Colon/ recto					x
Ano					x

Según la información combinada en las Tablas 1 y 2, el manifiesto de la EII en una región particular del GIT expuesta en la columna 1 de la Tabla 2 puede ser tratado con composiciones antigénicas que comprenden determinantes antigénicos de *Escherichia coli* completamente destruidas de la Tabla 1, de manera que los encabezados de columna en la Tabla 2 sean en efecto sustituidos con las especies bacterianas de la Tabla 1.

En algunas realizaciones, las células *de Escherichia coli* completamente destruidas para su uso en la invención pueden ser patógenos bacterianos exógenos. En algunas realizaciones, los determinantes antigénicos de tanto las *Escherichia coli* completamente destruidas endógenas como exógenas dirigidas a un tejido u órgano específico pueden usarse en combinación.

Tabla 3 Patógenos humanos bacterianos exógenos, y sus sitios de infección en el GIT

Especies bacterianas	Región del GIT
Aerobacter spp.	intestino delgado, colon,
Bacillus anthracis	oral, intestino delgado, colon, hematológico
Bacillus cereus	colon,
otros Bacillus spp.	colon, estómago, intestino delgado
Brucella spp.	intestino delgado, colon
Campylobacter coli	intestino delgado, colon
Campylobacter jejuni	colon
Campylobacter sputorum	intestino delgado, colon
Clostridium bifermentans	intestino delgado, colon, estómago
Clostridium botulinum	colon, intestino delgado
Clostridium difficile	colon
Clostridium indolis	intestino delgado, colon, estómago,
Clostridium mangenolii	intestino delgado, colon, estómago
Clostridium perfringens	intestino delgado, colon, estómago
Clostridium sordellii	intestino delgado, colon, estómago
Clostridium sporogenes	intestino delgado, colon, estómago
Clostridium subterminale	intestino delgado, colon, estómago
Edwarsiella tarda	intestino delgado, colon
Francisella tularensis	intestino delgado
Helicobacter pylori	estómago
Leptospirosis spp.	oral
Listeria monocytogenes	intestino delgado, colon
Mycobacterium bovis	colon, intestino delgado
Mycobacterium tuberculosis	intestino delgado, colon
Pediococcus spp.	colon
Plesiomonas shigelloides	intestino delgado, colon
Rickettsia rickettsiae	intestino delgado
Salmonella spp.	estómago, intestino delgado, colon
Shigella boydii	colon
Shigella dysenteriae	colon
Shigella flexneri	colon
Shigella sonnei	colon
otros Spirillum spp.	colon
Streptococcus zooepidemicus	intestino delgado
Treponema pallidum	oral, ano
Tropheryma whipplei	intestino delgado, colon
Vibrio cholerae	colon, intestino delgado
Vibrio fluvialis	intestino delgado, colon
Vibrio furnissii	intestino delgado, colon
Vibrio hollisae Vibrio parahaemolyticus	intestino delgado, colon colon, intestino delgado
Yersinia enterocolitica	intestino delgado, colon
Yersinia pseudotuberculosis	intestino delgado, colon

La Tabla 4 proporciona una lista a modo de ejemplo de patógenos virales junto con los sitios de tejido y de órgano para los que cada especie viral es supuestamente un patógeno.

Tabla 4 Patógenos humanos virales y sus sitios de infección

Virus	Región del GIT
Virus del herpes simple (1 y 2)	recto, ano
Citomegalovirus	intestino delgado, colon/recto
Virus de Epstein-Barr	oral
Adenovirus	oral, intestino delgado, colon
Virus del papiloma humano	ano, oral
Ortoreovirus	intestino delgado, colon, oral
Coltivirus	oral
Rotavirus	intestino delgado, colon
Alfavirus	intestino delgado, colon,
Coronavirus	oral, intestino delgado, colon

(continuación)

Virus	**Región del GIT**
Torovirus	intestino delgado, colon
Virus paragripales	oral
Virus respiratorio sincitial	oral
Metaneumovirus humano	oral, intestino delgado, colon
Virus de la estomatitis vesicular	oral, intestino delgado, colon
Virus de la rabia	oral
Virus de la gripe	oral
Hantavirus	oral
Virus Machupo	intestino delgado, colon
Virus de Junin	intestino delgado, colon
Virus de la poliomielitis	intestino delgado, colon
Virus de Coxsackie	intestino delgado, colon
Ecovirus	oral, intestino delgado, colon
Virus de la hepatitis A	intestino delgado, colon
Rinovirus	oral
Norovirus y otros calicivirus	intestino delgado, colon
Astrovirus	intestino delgado, colon
Picobirnavirus	intestino delgado, colon
Virus de la hepatitis E	intestino delgado, colon

La información acumulada en las Tablas 1 a 4 proporciona una amplia identificación de patógenos que pueden usarse en la formulación de composiciones antigénicas de la invención, junto con una identificación de la región del GIT en la que estos organismos son patógenos, y por consiguiente identifica la región del GIT en la que una EII está situada que puede tratarse con una formulación antigénica de la invención.

En algunas realizaciones, el patógeno de *Escherichia coli* seleccionado para su uso en las composiciones antigénicas de la invención pueden ser uno que es una causa común de infección aguda en la región del GIT en la que la EII que va a tratarse está situada. La Tabla 5 identifica patógenos bacterianos y virales de este tipo, junto con la región del GIT en la que comúnmente producen infección. Por consiguiente, en realizaciones seleccionadas, una EII que reside en una región del GIT identificada en la primera columna de la Tabla 5 puede tratarse con una composición antigénica que comprende determinantes antigénicos para al menos una *Escherichia coli* enumerada en la segunda columna de la Tabla 5.

Tabla 5: Causas comunes de infección aguda (bacterias y virus) para regiones seleccionadas del GIT

Regiones seleccionadas del GIT	Patógenos bacterianos o virales comunes
Oral	*Prevotella melaninogenicus*, estreptococos anaerobios, estreptococos viridans, *Actinomyces* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp., y otros anaerobios orales
	herpes simple, virus de Coxsackie, Epstein-Barr
Estómago	*Streptococcus pyogenes*, *Helicobacter pylori*
	citomegalovirus, herpes simple, Epstein-Barr, rotavirus, norovirus, adenovirus
Intestino delgado	*Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteriditis*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*
	adenovirus, astrovirus, calicivirus, norovirus, rotavirus, citomegalovirus
Colon/Recto	*Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteriditis*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*
	adenovirus, astrovirus, calicivirus, norovirus, rotavirus, citomegalovirus
Ano	*Streptococcus pyogenes*, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp., estreptococos anaerobios, *Clostridium* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Treponema pallidum*
	herpes simple

Los organismos específicos que comúnmente producen infección en una región específica del GIT pueden variar por localización geográfica. La Tabla 5 no es así una lista exhaustiva de patógenos comunes para todas las localizaciones geográficas y grupos de población. Se entiende que un experto en la materia en microbiología clínica podría determinar las especies de patógeno comunes en un área geográfica particular o grupo de población para una región específica del GIT según la invención.

Los seres humanos son hospedadores para una amplia variedad de parásitos gastrointestinales, que incluyen

diversos protozoos y helmintos, que para los fines de la presente invención constituyen patógenos del GIT (Schafer, T.W., Skopic, A. Parasites of the small intestine. Curr Gastroenterol Reports 2006;8:312-20; Jernigan, J., Guerrant, R.L., Pearson, R.D. Parasitic infections of the small intestine. Gut 1994;35:289-93; Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and liver disease. 8ª ed. 2006; Garcia, L.S. Diagnostic medical parasitology. 5ª ed. 2007). Componentes antigénicos de varios protozoos incluyen, por ejemplo: *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Cryptosporidium hominus, Isospora belli,* especies de Sarcocystis, cuerpos similares a coccidios (especies de Cyclospora), *Enterocytozoon bieneusi, Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, Entamoeba coli, Entamoeba hartmanni, Endolimax nana, Iodamoeba bütschlii, Dientameoba fragilis, Blastocystis hominus, Cyclospora cayetanensis,* Microsporidia, *Trypanosoma cruzi, Chilomastix mesnili, Pentatrichomonas hominis, Balantidium coli.* Similarmente, componentes antigénicos de varios helmintos incluyen, por ejemplo: Céstodos (tenias), *Taenia saginata, Taenia solium,* especies de *Diphyllobothrium*, *Hymenolepis nana, Hymenolepis diminuta, Dipylidium caninum,* namatodos (gusanos redondos), *Ascaris lumbricoides, Strongyloides stercoralis, Necator americanus, Ancylostoma duodenale, Ancylostoma caninum, Tichuris trichiura, Capillaria philippinensis,* especies de Trichostrongylus, especies de *Trichinella*, *Necator americanus,* Anisakis y especies relacionadas, *Angiostrongylus costaricensis, Enterobius vermicularis,* trematodos (duelas), *Fasciolopsis buski,* especies de *Heterophyes*, especies de *Echinostoma*, *Clonorchis sinensis,* especies de *Opisthorchis*, especies de *Fasciola*, *Metagonimus yokogawi, Schistosoma mansoni, Schistosoma japonicum, Schistosoma mekongi, Schistosoma intercalatum,* especies de *Echinostoma* y especies de *Paragonimus*.

En realizaciones seleccionadas, la invención implica etapas de diagnóstico para evaluar una exposición previa del paciente a un organismo. Por ejemplo, las etapas de diagnóstico pueden incluir tomar una historia médica de exposición a patógenos seleccionados, y/o evaluar la respuesta inmunitaria de un paciente a un patógeno seleccionado. Por ejemplo, puede realizarse una prueba de serología para detectar anticuerpos para patógenos seleccionados en los sueros de un paciente. A propósito de este aspecto de la invención, pueden elegirse determinantes antigénicos de un patógeno seleccionado para su uso en una composición inmunogénica en un paciente seleccionado basándose en una indicación de diagnóstico de que el paciente ha tenido una o más exposición (exposiciones) previa(s) al patógeno, por ejemplo en virtud de la presencia de anticuerpos para determinantes antigénicos de ese patógeno en los sueros del paciente.

En realizaciones seleccionadas adicionales, la invención implica etapas de diagnóstico para evaluar la respuesta inmunológica de un paciente al tratamiento con una composición inmunogénica seleccionada. Por ejemplo, las etapas de diagnóstico pueden incluir evaluar la respuesta inmunitaria de un paciente a los determinantes antigénicos de esa composición inmunogénica, por ejemplo usando una prueba serológica para detectar anticuerpos para aquellos determinantes antigénicos. A propósito de este aspecto de la invención, un tratamiento con una composición inmunogénica seleccionada puede ser continuado si la evaluación indica que hay una respuesta inmunológica activa a los determinantes antigénicos de esa composición, y el tratamiento de vacuna puede ser interrumpido, y puede iniciarse un tratamiento alternativo con una composición inmunogénica diferente, si la evaluación indica que no hay una respuesta inmunológica suficientemente activa a los determinantes antigénicos de la composición inmunogénica.

La palabra "que comprende" se usa en el presente documento como un término de extremos abiertos sustancialmente equivalente a la expresión "que incluye, pero no se limita a", y la palabra "comprende" tiene un significado correspondiente. Como se usa en el presente documento, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto dicte claramente de otro modo. Así, por ejemplo, referencia a "una cosa" incluye más de una cosa tal. La citación de referencias en el presente documento no es una admisión de que tales referencias sean estado de la técnica para la presente invención.

El siguiente ejemplo ilustra una realización de la invención.

Ejemplo 1: Estudios de enfermedad inflamatoria del intestino

Este ejemplo proporciona una ilustración del uso clínicamente eficaz de una formulación antigénica que comprende *E. coli* destruida en el tratamiento de un paciente con enfermedad de Crohn, durante un transcurso del tratamiento de tres meses. Durante el transcurso del tratamiento, el paciente llega a estar libre de síntomas y cesó el uso de medicaciones antiinflamatorias.

El paciente inicialmente se presentó informando dolor en el área del intestino grueso, mientras estaba en tratamiento con prednisona e Imuran™.

El tratamiento se inició con un inóculo subcutáneo de una formulación destruida de *E. coli* completa, derivada de una cepa de *E. coli* recogida de un paciente con una infección colónica por *E. coli*. El programa de dosificación implicó una dosis subcutánea cada dos días, empezando con una dosis de 0,05 ml, gradualmente aumentando en volumen hasta que se logró una respuesta de la piel rosa clara/roja de 2 pulgadas (5,1 cm) de diámetro en el plazo de 24 horas después de la inyección en el sitio de inyección. La dosis con el tiempo requerida para lograr esta respuesta de la piel fue 0,09-0,11 ml en este paciente, y esta dosis ha continuado como una dosis de mantenimiento cada dos días.

Una semana tras el inicio del tratamiento con la preparación antigénica de *E. coli* completamente destruida, el paciente informó que se había ido el dolor. En el plazo de aproximadamente dos meses, el paciente interrumpió el tratamiento con prednisona mientras que continuaba con una dosis diaria de 150 mg de Imuran™. Posteriormente, el paciente también interrumpió el uso de Imuran™.

Dos meses tras el inicio del tratamiento con la composición de *E. coli*, el paciente se auto-administró con 0,09-0,11 ml de la preparación de *E. coli* cada dos días. El paciente se auto-ajustó esta dosificación de manera que provocara una reacción inflamatoria local evidenciada por una mancha rosa de aproximadamente 2 pulgadas (5,1 cm) de diámetro que persistió en el sitio de administración durante aproximadamente dos días.

Otras realizaciones

Intervalos numéricos son incluyentes de los números que definen el intervalo. En la memoria descriptiva, la palabra "que comprende" se usa como un término de extremos abiertos, sustancialmente equivalente a la expresión "que incluye, pero no se limita a" y la palabra "comprende" tiene un significado correspondiente. La cita de referencias en el presente documento no debe interpretarse como una admisión de que tales referencias sean estado de la técnica para la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición antigénica para su uso en el tratamiento de un paciente humano con una enfermedad inflamatoria intestinal (EII) que es sintomática en una región de un tubo gastrointestinal (GIT),

en donde la composición antigénica comprende determinantes antigénicos que juntos son específicos para al menos una *Escherichia coli* que es patógena en la región del GIT, en donde la composición antigénica se administra por vía intradérmica o por vía subcutánea, en donde la composición antigénica comprende células completamente destruidas de la *Escherichia coli,*
en donde la composición antigénica se administra en una forma farmacéutica en un sitio de administración en dosis sucesivas administradas a un intervalo de dosificación de entre una hora y un mes, durante una duración de dosificación de al menos 1 semana,
en donde cada forma farmacéutica de la composición antigénica es eficaz para producir una inflamación localizada visible en el sitio de administración en un plazo de 1 a 48 horas y la inflamación localizada visible es un área de inflamación de 2 mm a 100 mm de diámetro, que aparece opcionalmente entre 2 y 48 horas después de la administración y que dura opcionalmente entre 2 y 72 horas.

2. La composición antigénica para su uso según la reivindicación 1, en donde la EII se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, síndrome de Behçet o colitis indeterminada.

3. La composición antigénica para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde la composición antigénica se administra durante una duración de dosificación de al menos 2 semanas, 2 meses o 6 meses.

4. La composición antigénica para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde al paciente humano se le administra además una cantidad eficaz de un medicamento antiinflamatorio o inmunosupresor.

5. La composición antigénica para su uso según la reivindicación 4, en donde el medicamento es sulfasalazina, mesalamina, un corticosteroide, azatioprina, mercaptopurina, infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, metotrexato, ciclosporina o natalizumab.

6. La composición antigénica para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde al paciente se le diagnostica haber sufrido una exposición anterior a patógenos con *Escherichia coli.*

7. La composición antigénica para su uso según cualquier reivindicación anterior, en donde las células completamente destruidas de la *Escherichia coli* son una cepa de *Escherichia coli* recogida de un paciente con una infección por *Escherichia coli*.

FIGURA 1

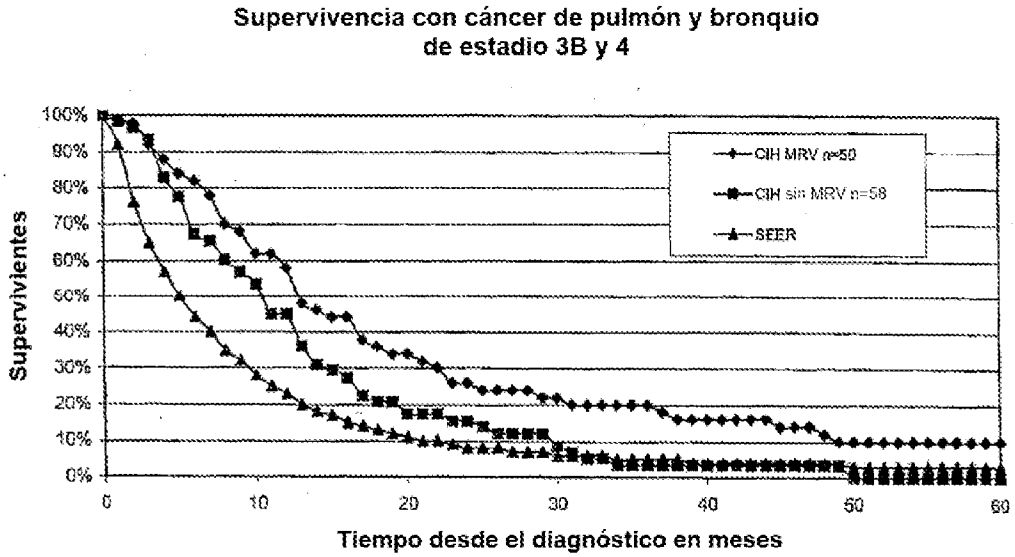

Supervivencia con cáncer de pulmón y bronquio de estadio 3B y 4
Supervivientes
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
0
10
20
30
40
50
60
Tiempo desde el diagnóstico en meses
CIH MRV n=50
CIH sin MRV n=58
SEER

FIGURA 2

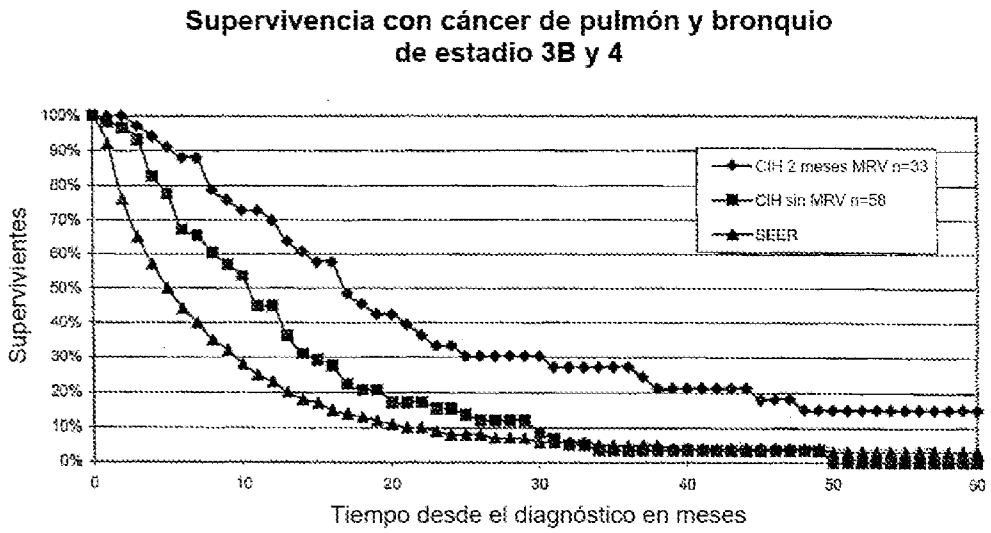

Supervivencia con cáncer de pulmón y bronquio de estadio 3B y 4
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
Supervivientes
0
10
20
30
40
50
60
Tiempo desde el diagnóstico en meses
CIH 2 meses MRV n=33
CIH sin MRV n=58
SEER

Figura 3: Análisis combinado de MRV frente a pulmón 2 sin MRV

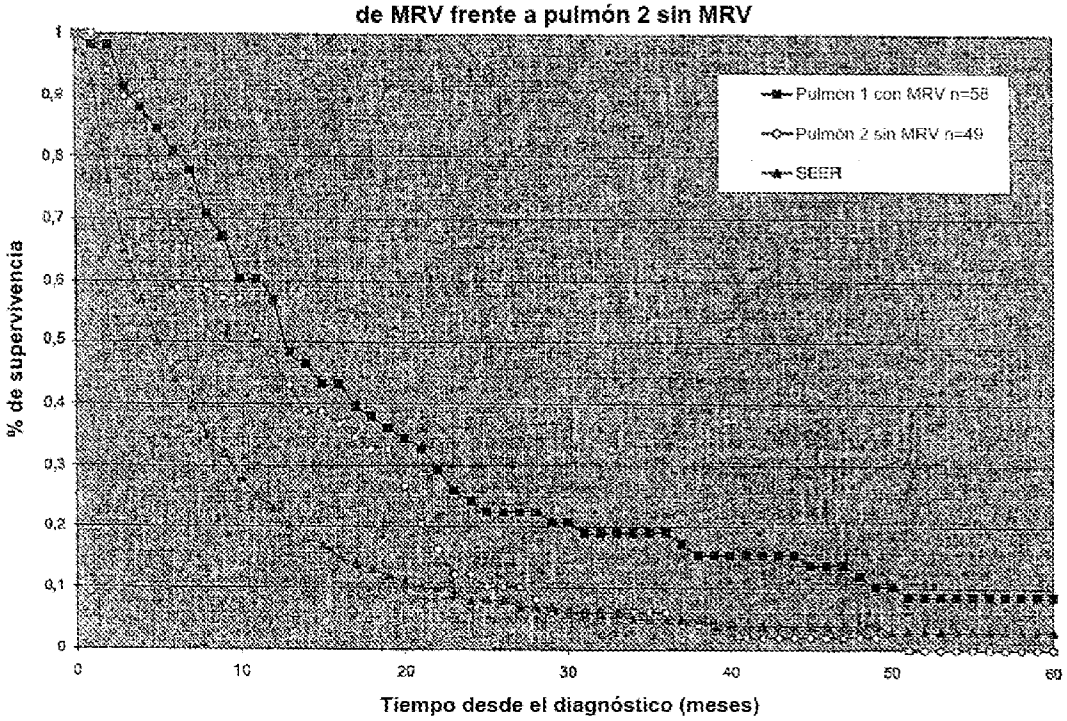


Figura 4: Análisis combinado de MRV >2 meses frente a pulmón 2 sin MRV

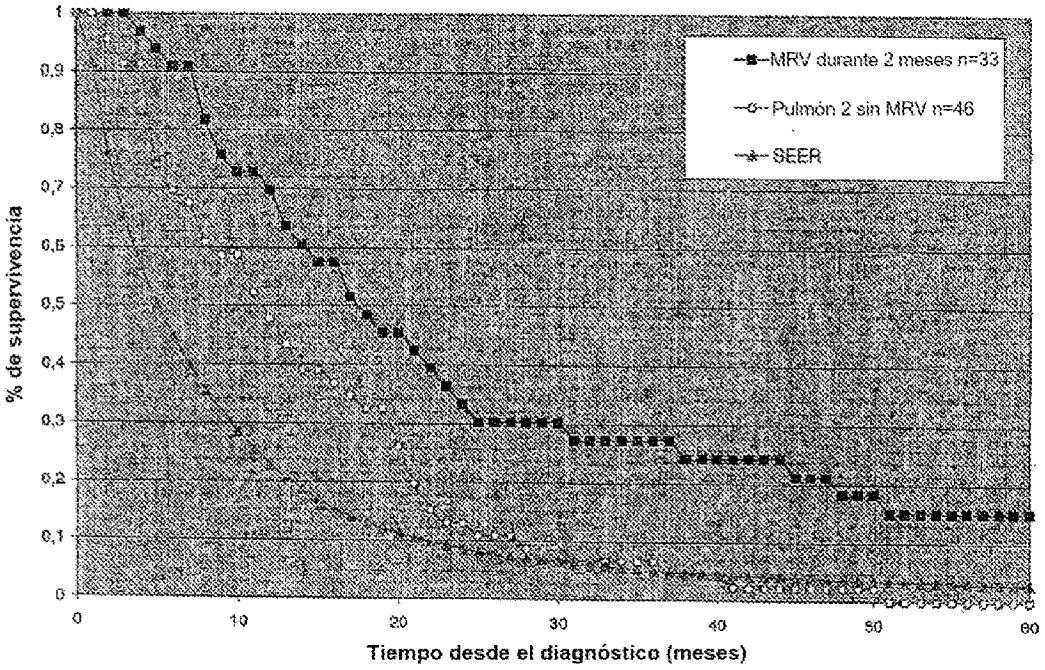


Figura 5: Análisis combinado de MRV >6 meses frente a pulmón 2 sin MRV

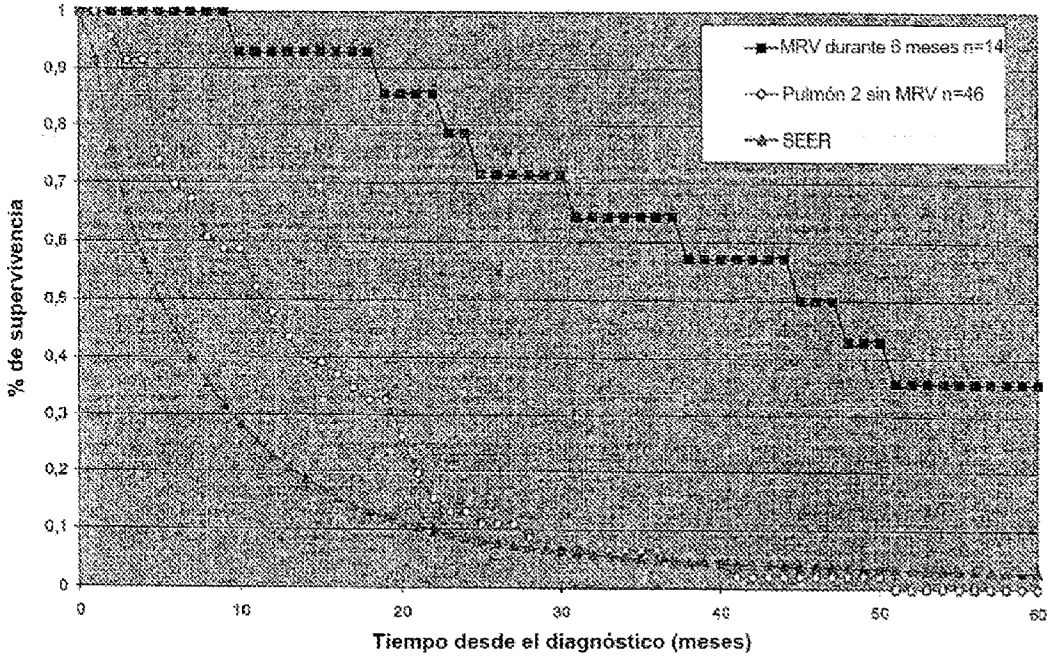


Figura 6
Curva de supervivencia con cáncer de mama de estadio 4 para metástasis en hueso/pulmón

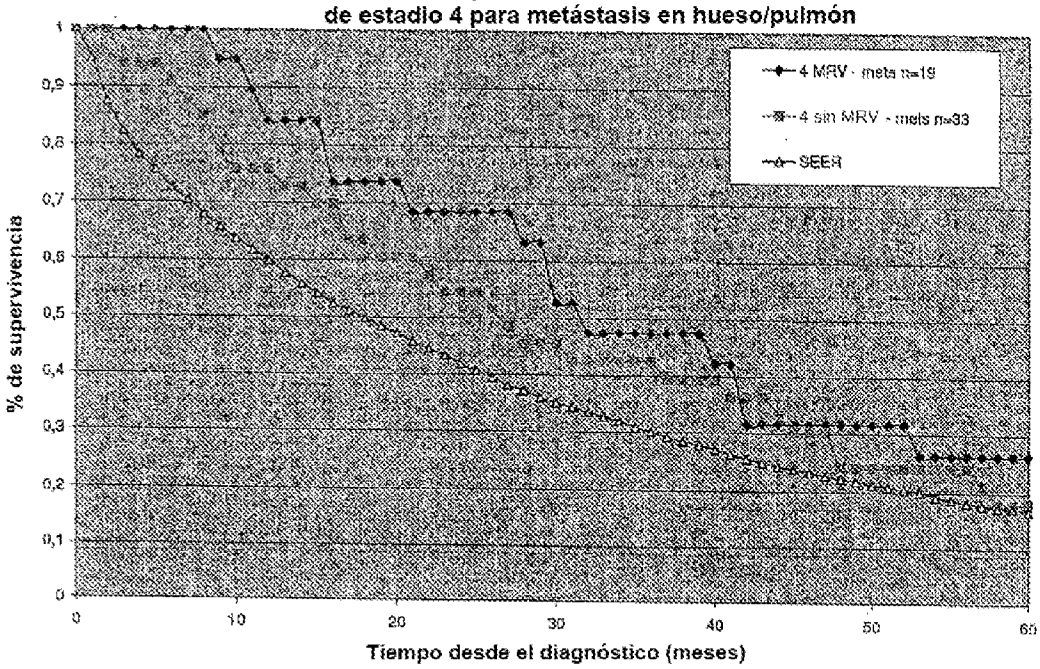


Figura 7
Supervivencia de pacientes con cáncer de próstata de estadio 4 con metástasis en hueso
Cirugía o radioterapia para destruir la próstata

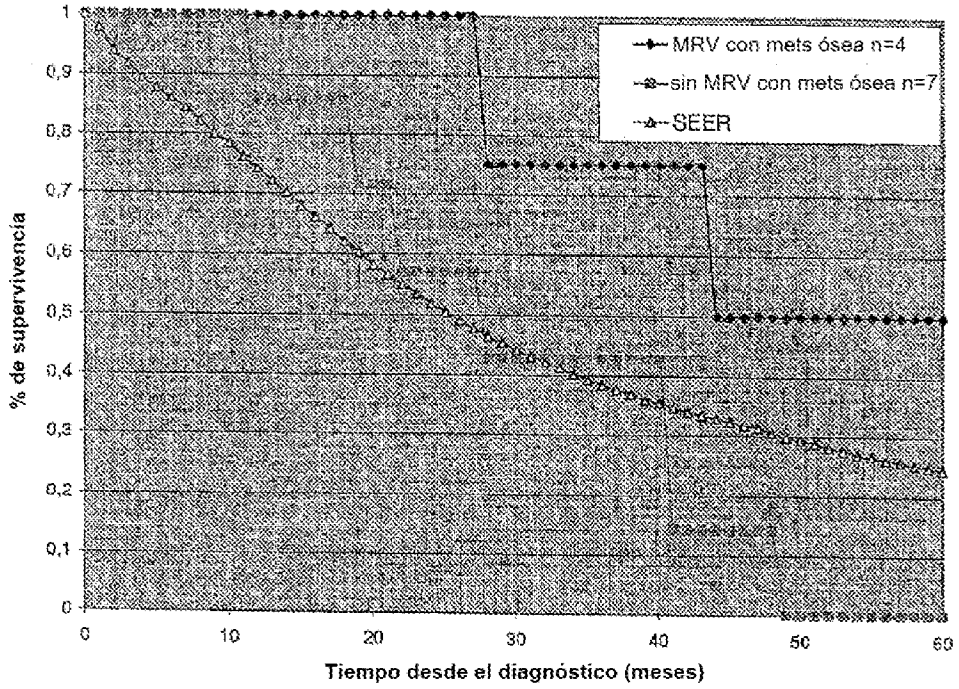


Figura 8: Comparación de tratamientos para cáncer colorrectal de estadio 4

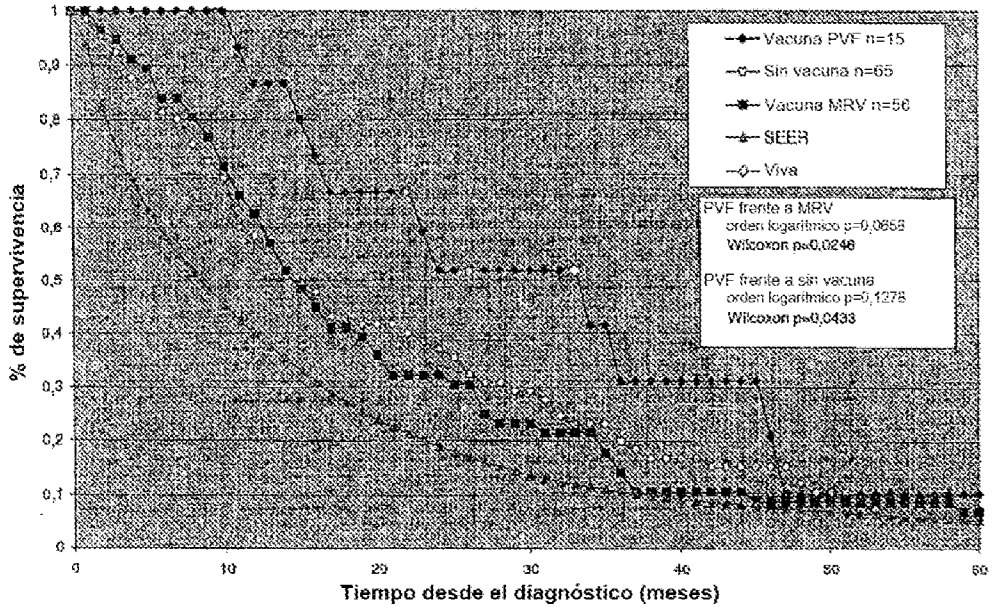


Figura 9: Primera visita para cáncer colorrectal de estadio 4 en los primeros 3 meses tras la fecha de metástasis

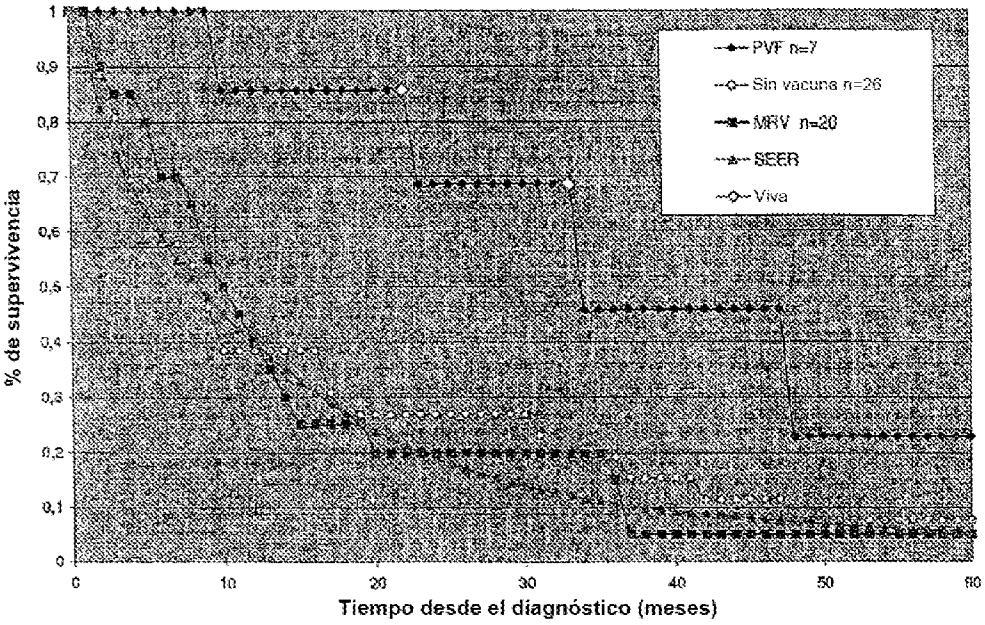


Figura 10

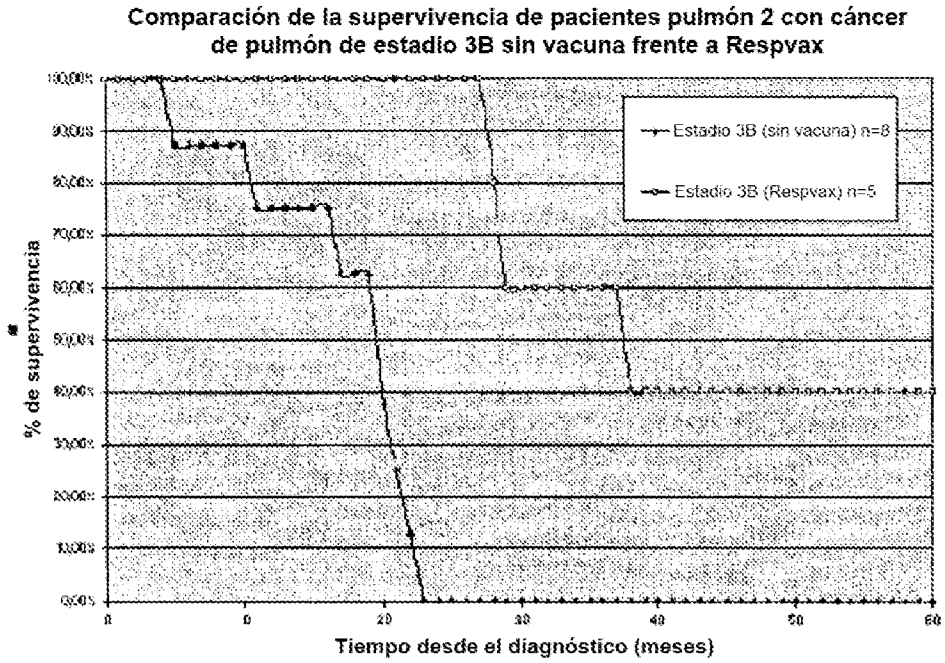

Comparación de la supervivencia de pacientes pulmón 2 con cáncer de pulmón de estadio 3B sin vacuna frente a Respvax
Estadio 3B (sin vacuna) n=8
Estadio 3B (Respvax) n=5
% de supervivencia
Tiempo desde el diagnóstico (meses)

Figura 11: Supervivencia con cáncer de pulmón de estadio 3B y 4 para casos diagnosticados en 1992-2000 ambos inclusive

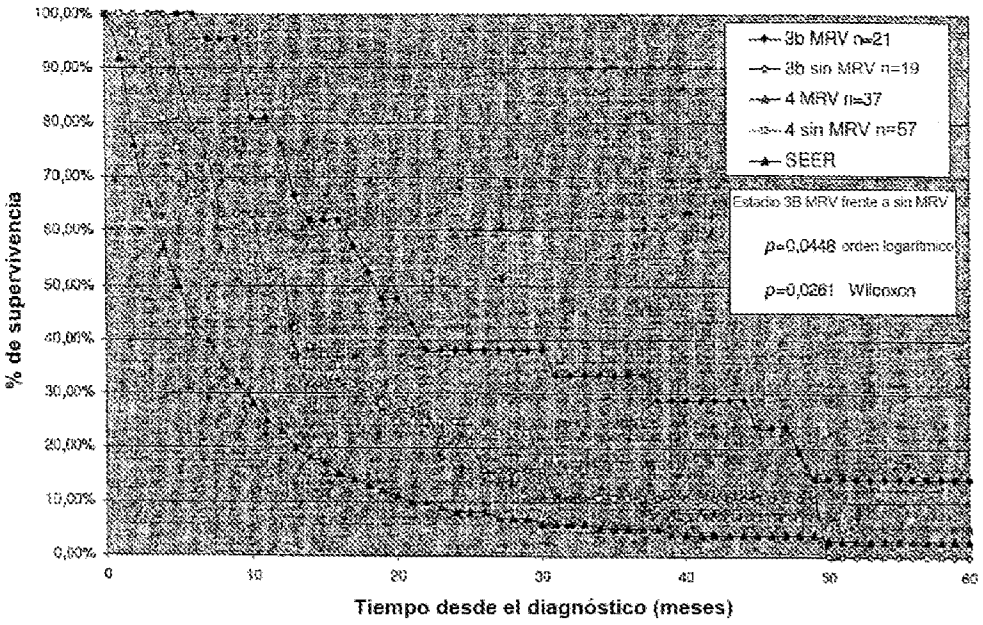


Figura 12: Supervivencia con cáncer de pulmón de estadio 3B y 4 desde la primera visita de CIH

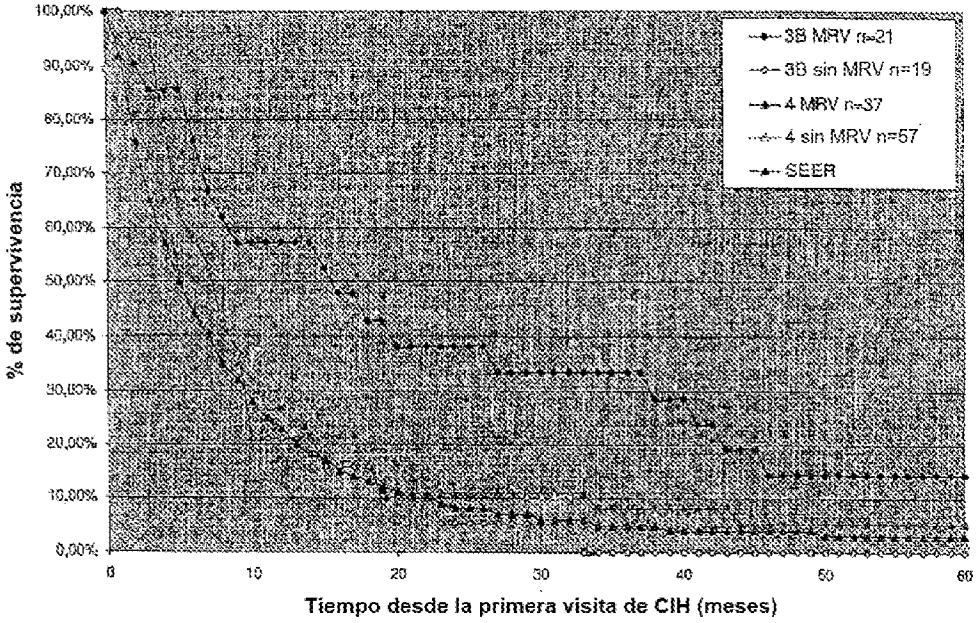
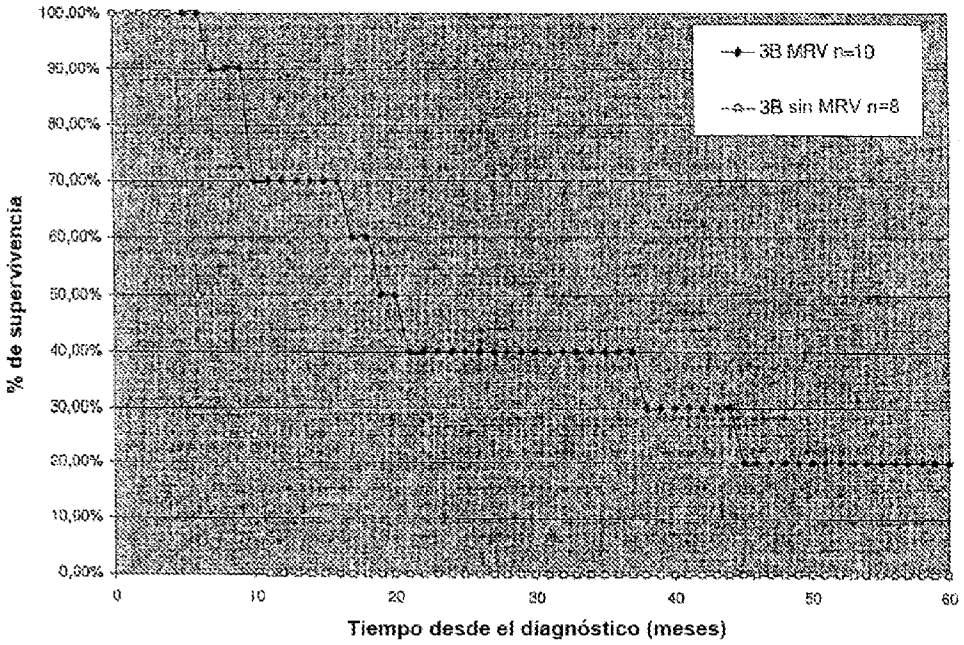


Figura 13: Visita de CIH de cáncer de pulmón de estadio 3B en los primeros 3 meses después del diagnóstico de estadio 3B



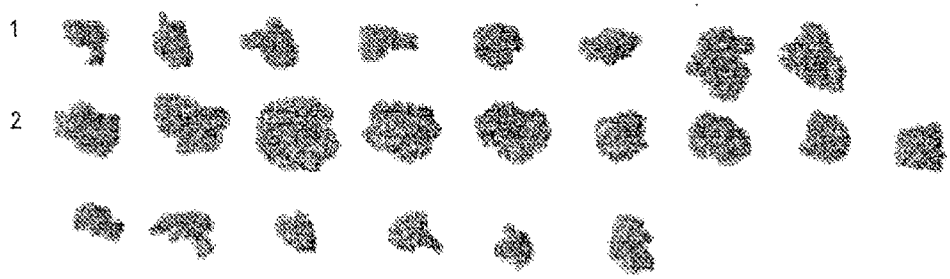


FIG. 14

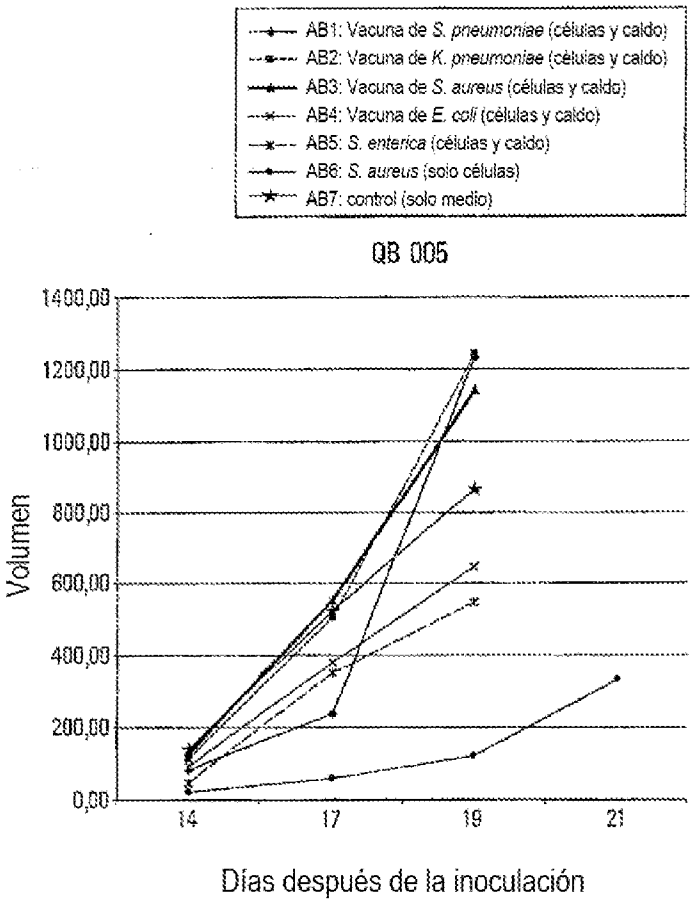

AB1: Vacuna de S. pneumoniae (células y caldo)
AB2: Vacuna de K. pneumoniae (células y caldo)
AB3: Vacuna de S. aureus (células y caldo)
AB4: Vacuna de E. coli (células y caldo)
AB5: S. enterica (células y caldo)
AB6: S. aureus (solo células)
AB7: control (solo medio)
QB 005
1400,00
1200,00
1000,00
800,00
600,00
400,00
200,00
0,00
Volumen
14
17
19
21
Días después de la inoculación

FIG. 15

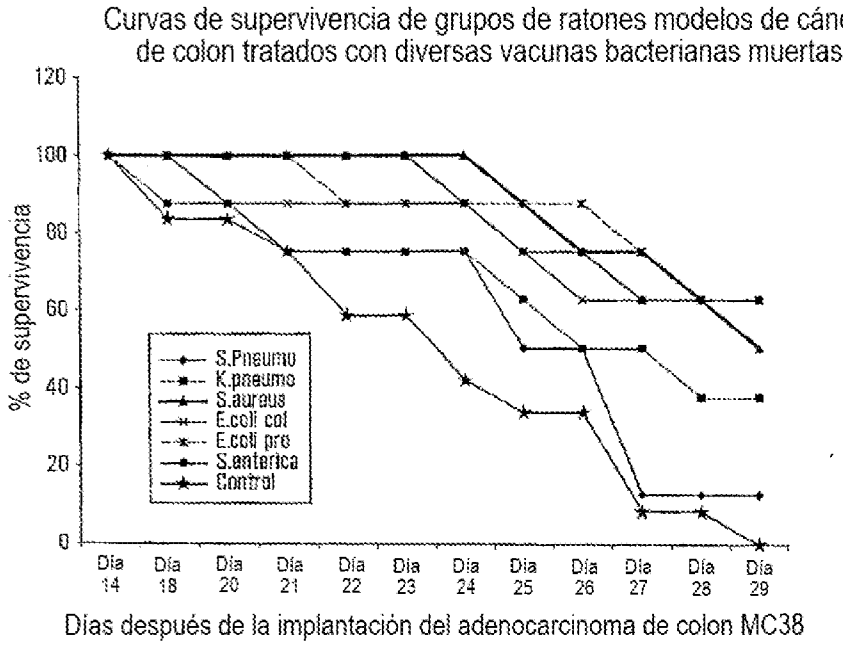

Curvas de supervivencia de grupos de ratones modelos de cáncer de colon tratados con diversas vacunas bacterianas muertas
% de supervivencia
120
100
80
60
40
20
0
S.Pneumo
K.pneumo
S.aureus
E.coli col
E.coli pre
S.enterica
Control
Día 14
Día 18
Día 20
Día 21
Día 22
Día 23
Día 24
Día 25
Día 26
Día 27
Día 28
Día 29
Días después de la implantación del adenocarcinoma de colon MC38

FIG. 16

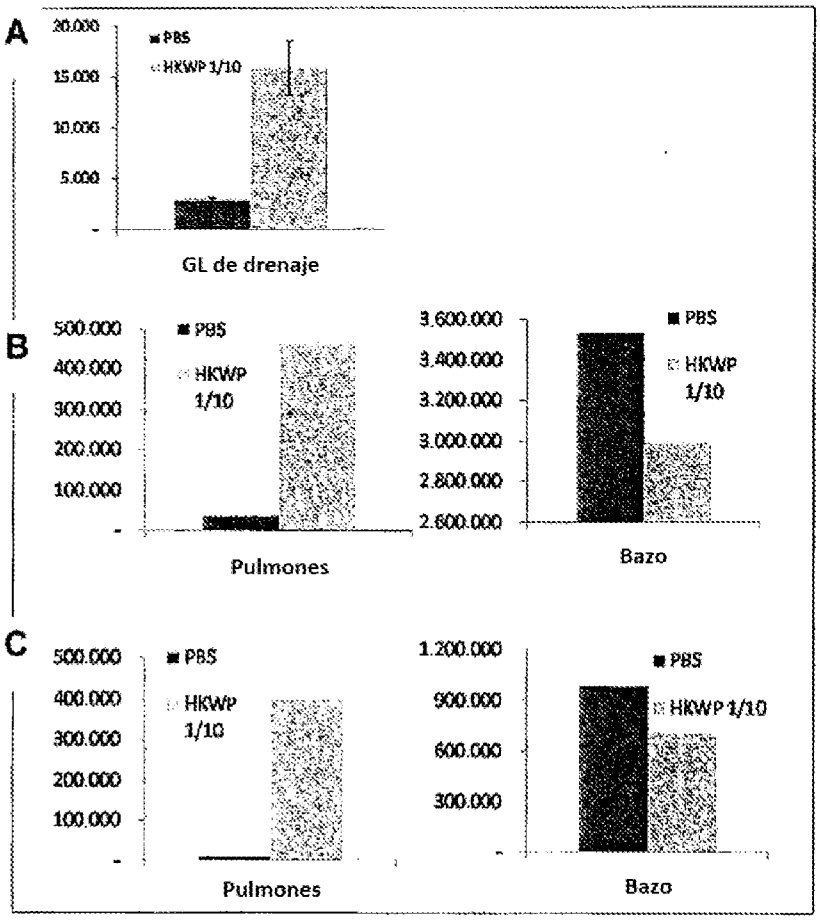

A
20.000
15.000
10.000
5.000
-
PBS
HKWP 1/10
GL de drenaje
B
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
-
PBS
HKWP 1/10
Pulmones
3.600.000
3.400.000
3.200.000
3.000.000
2.800.000
2.600.000
PBS
HKWP 1/10
Bazo
C
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
-
PBS
HKWP 1/10
Pulmones
1.200.000
900.000
600.000
300.000
-
PBS
HKWP 1/10
Bazo

FIGURA 17

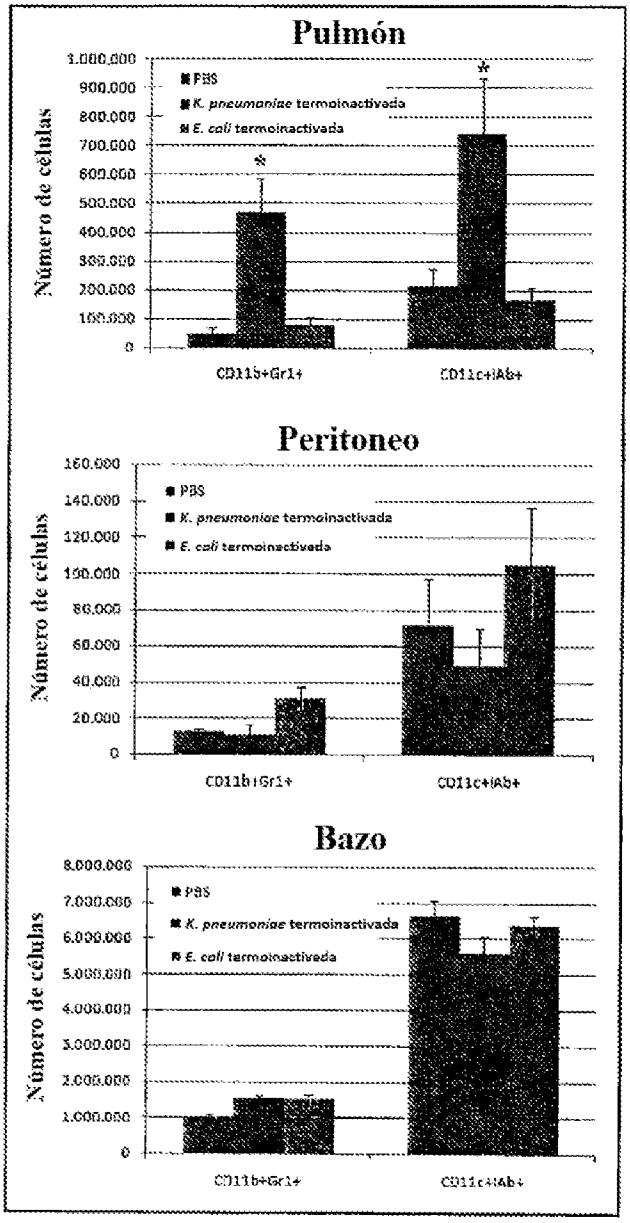

Pulmón
Número de células
1.000.000
900.000
800.000
700.000
600.000
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
0
PBS
K. pneumoniae termoinactivada
E. coli termoinactivada
*
*
CD11b+Gr1+
CD11c+IAb+
Peritoneo
Número de células
160.000
140.000
120.000
100.000
80.000
60.000
40.000
20.000
0
PBS
K. pneumoniae termoinactivada
E. coli termoinactivada
CD11b+Gr1+
CD11c+IAb+
Bazo
Número de células
8.000.000
7.000.000
6.000.000
5.000.000
4.000.000
3.000.000
2.000.000
1.000.000
0
PBS
K. pneumoniae termoinactivada
E. coli termoinactivada
CD11b+Gr1+
CD11c+IAb+

FIGURA 18

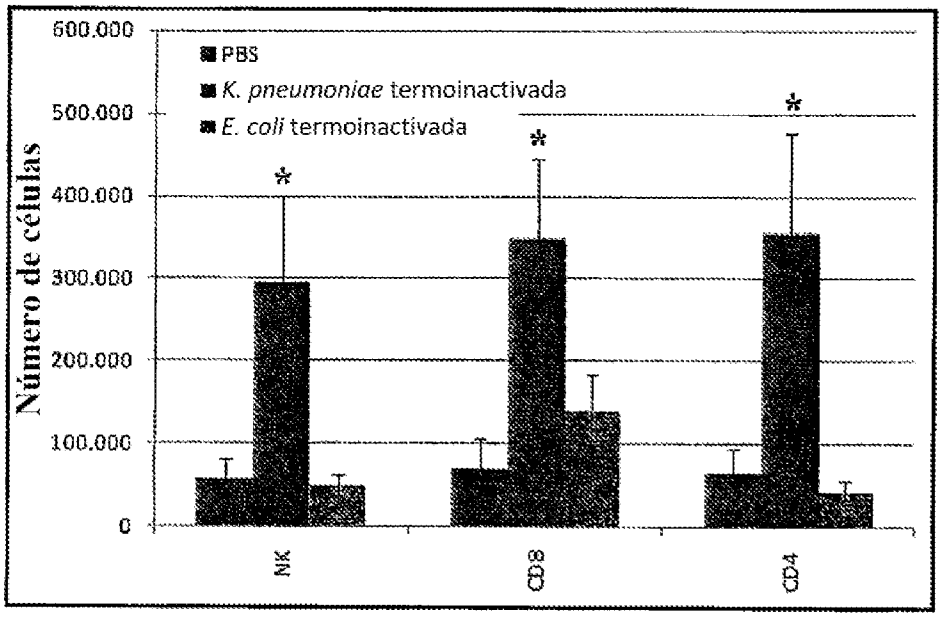

600.000
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
0
Número de células
PBS
K. pneumoniae termoinactivada
E. coli termoinactivada
*
*
*
NK
CD8
CD4

FIGURA 19

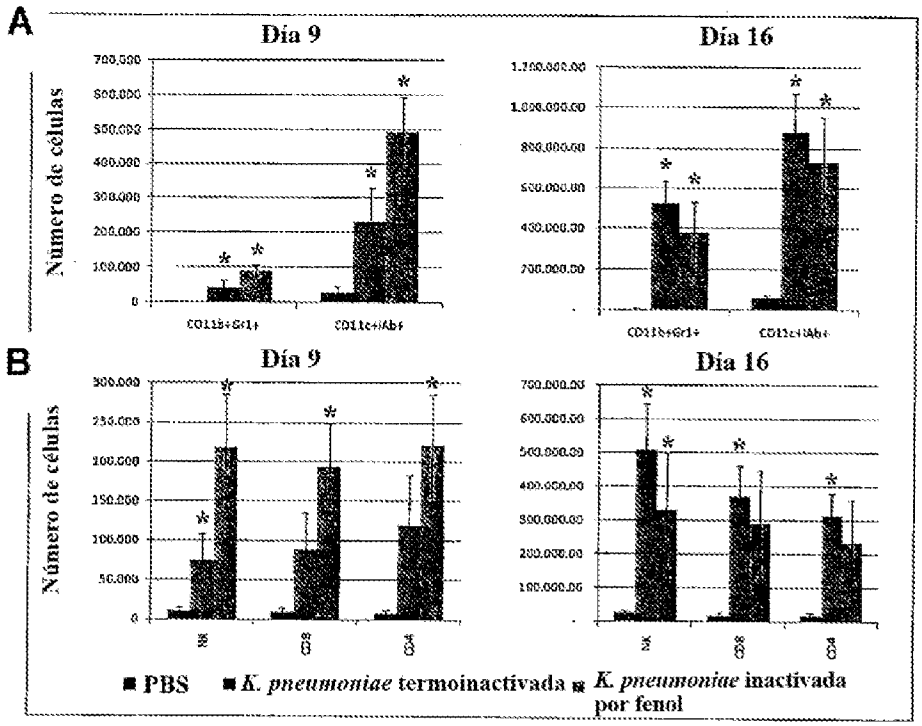

A
Día 9
Día 16
Número de células
B
Día 9
Día 16
Número de células
PBS
K. pneumoniae termoinactivada
K. pneumoniae inactivada por fenol

FIGURA 20

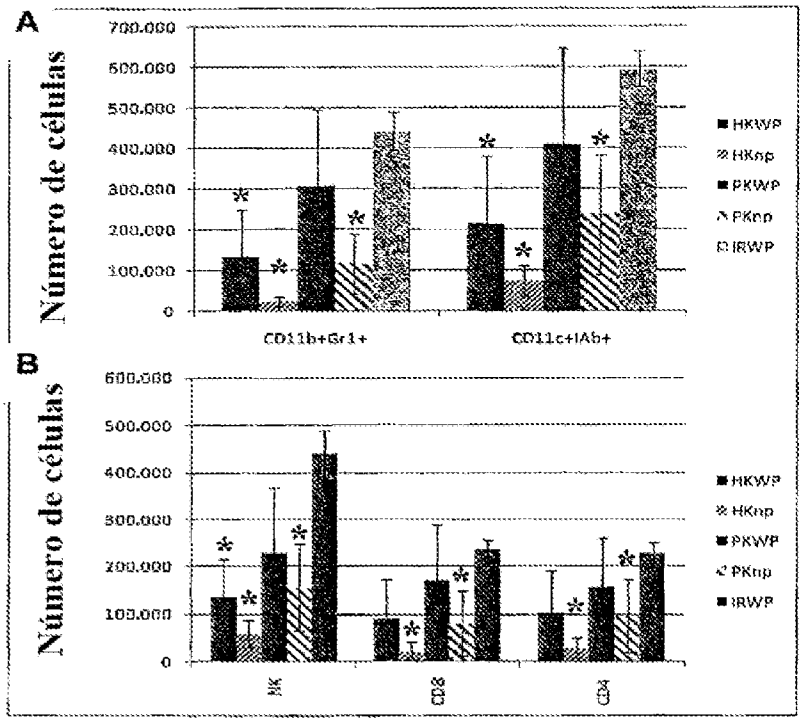

A
Número de células
700.000
600.000
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
0
CD11b+Gr1+
CD11c+IAb+
HKWP
HKnp
PKWP
PKnp
IRWP
B
Número de células
600.000
500.000
400.000
300.000
200.000
100.000
0
NK
CD8
CD4
HKWP
HKnp
PKWP
PKnp
IRWP

FIGURA 21

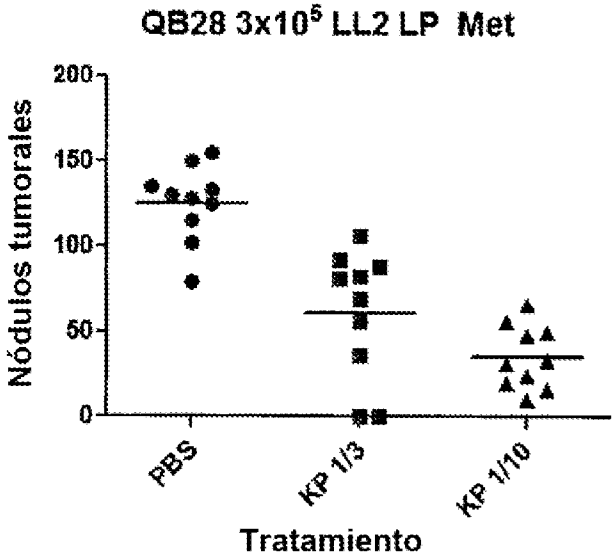

QB28 3x10^5 LL2 LP Met
Nódulos tumorales
200
150
100
50
0
PBS
KP 1/3
KP 1/10
Tratamiento

Figura 22

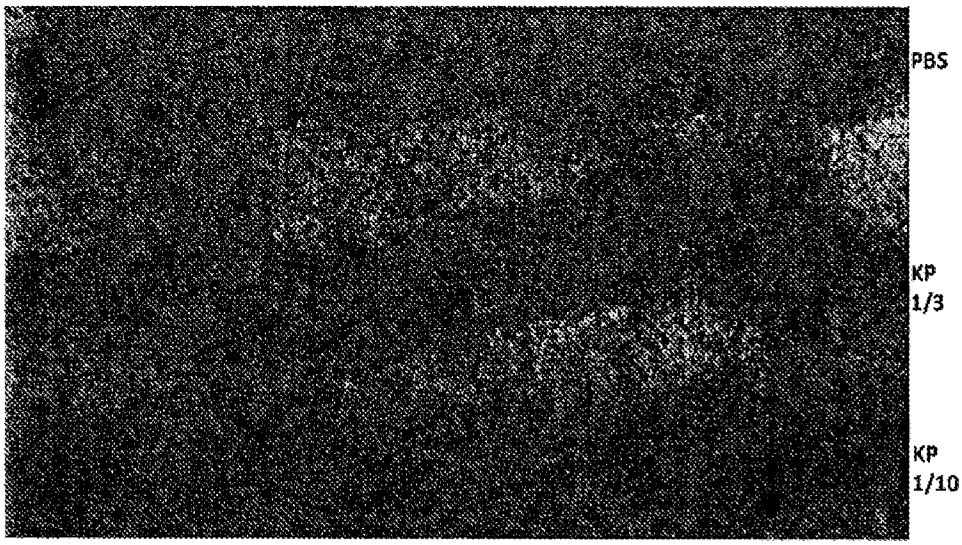


Figura 23

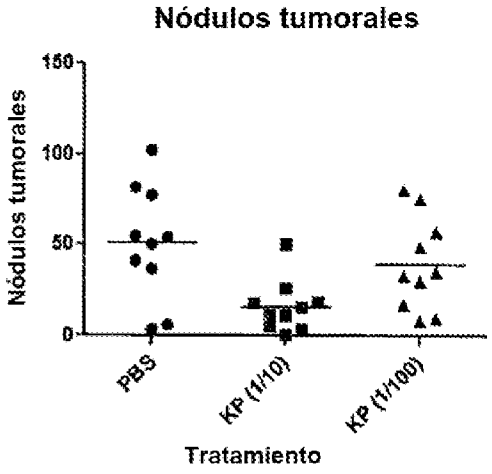

Nódulos tumorales
Nódulos tumorales
150
100
50
0
PBS
KP (1/10)
KP (1/100)
Tratamiento

Figura 24

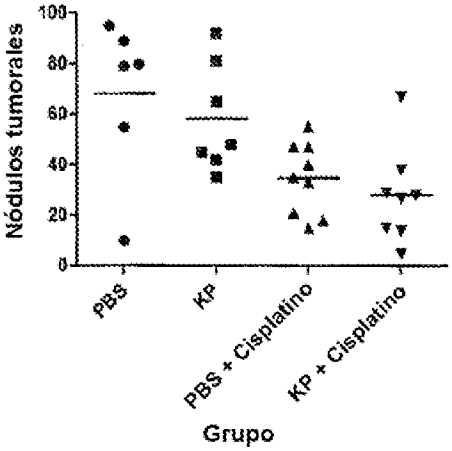

Nódulos tumorales
100
80
60
40
20
0
PBS
KP
PBS + Cisplatino
KP + Cisplatino
Grupo

Figura 25

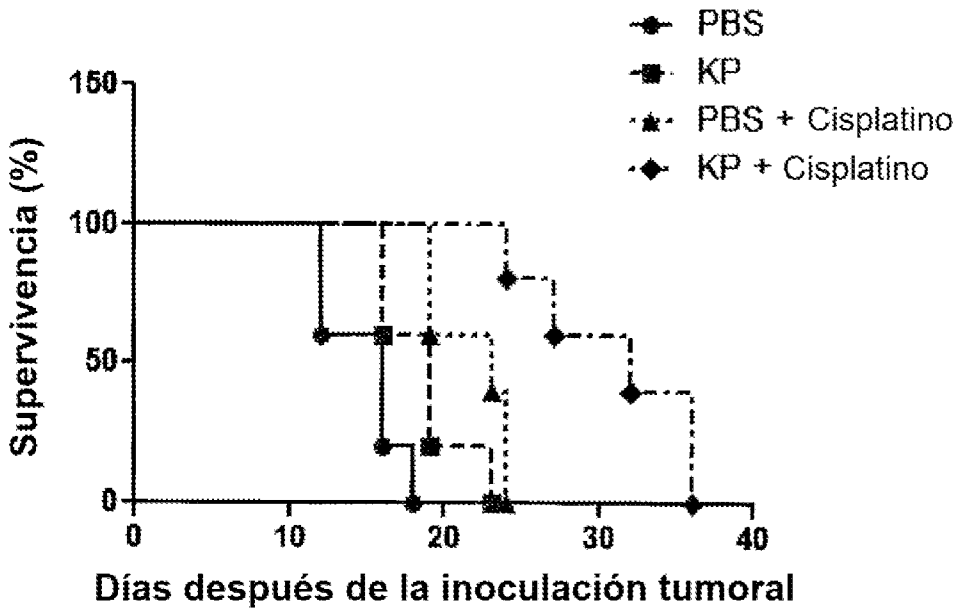

PBS
KP
PBS + Cisplatino
KP + Cisplatino
Supervivencia (%)
150
100
50
0
0
10
20
30
40
Días después de la inoculación tumoral

Figura 26

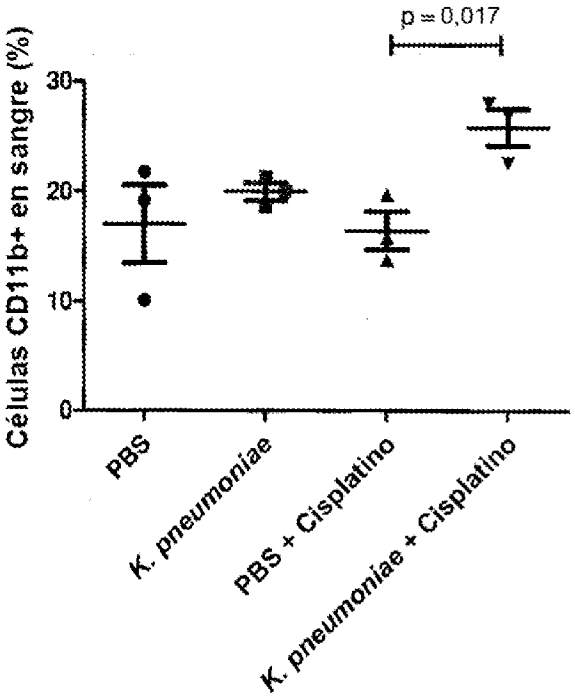

p = 0,017
Células CD11b+ en sangre (%)
30
20
10
0
PBS
K. pneumoniae
PBS + Cisplatino
K. pneumoniae + Cisplatino

Figura 27

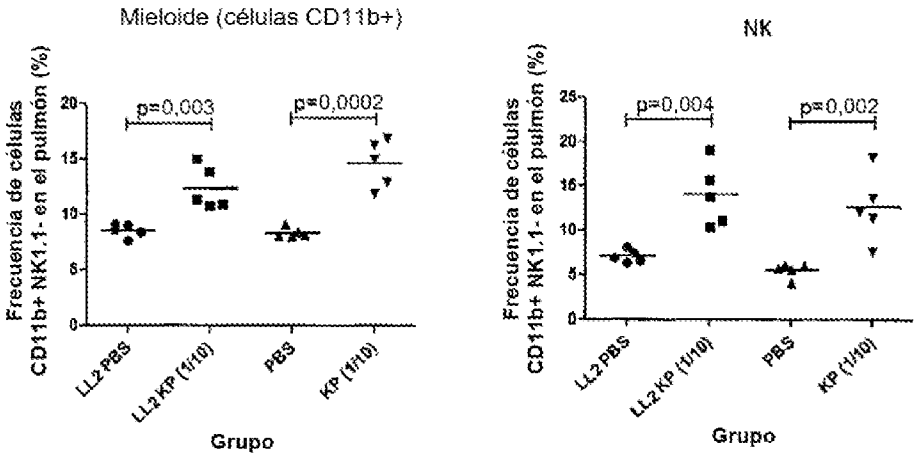

Mieloide (células CD11b+)
Frecuencia de células CD11b+ NK1.1- en el pulmón (%)
p=0,003
p=0,0002
LL2 PBS
LL2 KP (1/10)
PBS
KP (1/10)
Grupo
NK
Frecuencia de células CD11b+ NK1.1- en el pulmón (%)
p=0,004
p=0,002
LL2 PBS
LL2 KP (1/10)
PBS
KP (1/10)
Grupo

Figura 28

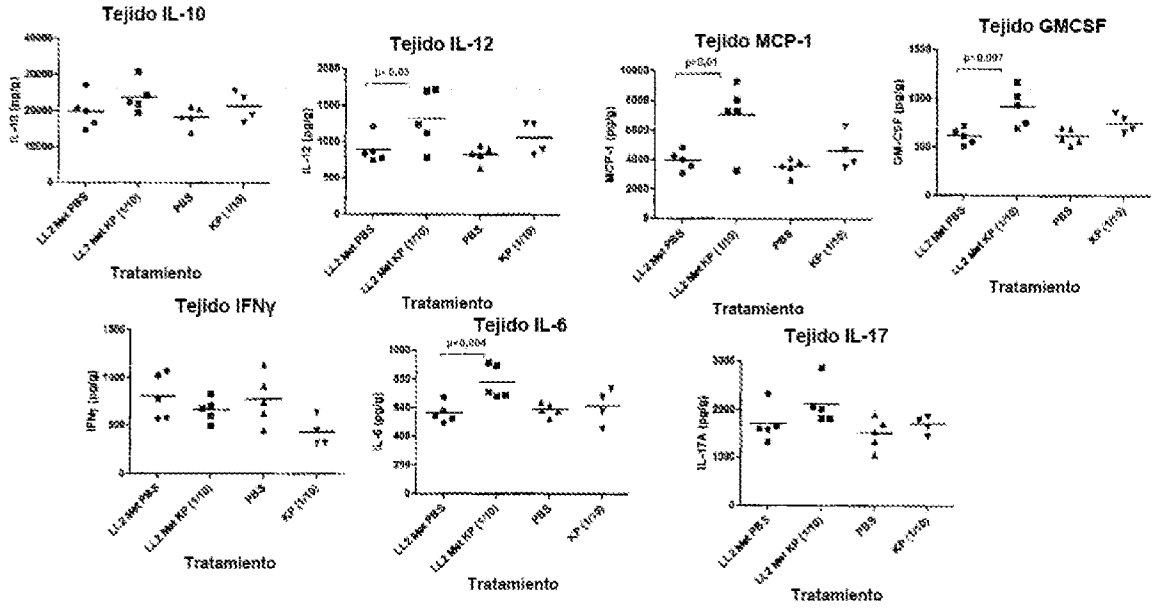

Tejido IL-10
Tejido IL-12
Tejido MCP-1
Tejido GMCSF
Tejido IFNγ
Tejido IL-6
Tejido IL-17
Tratamiento

Figura 29

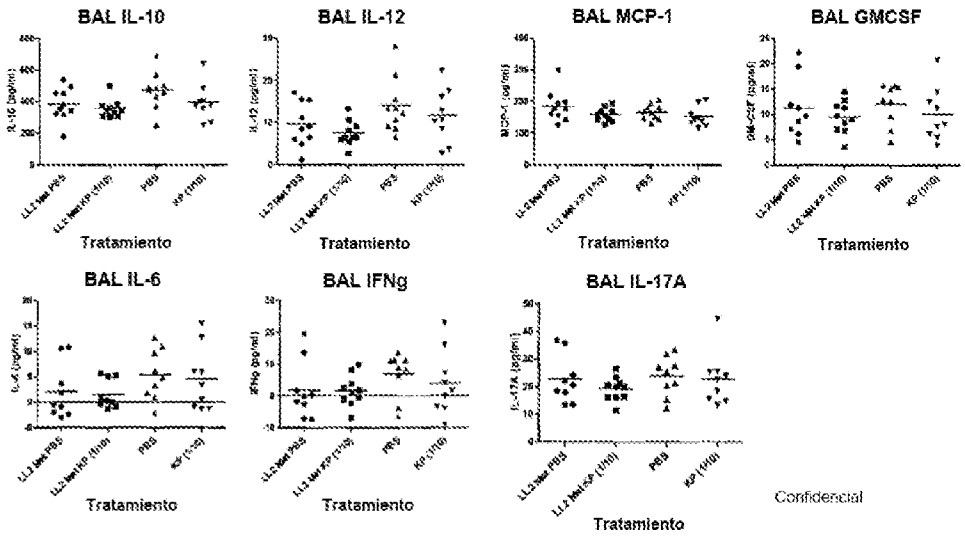

BAL IL-10
BAL IL-12
BAL MCP-1
BAL GMCSF
BAL IL-6
BAL IFNg
BAL IL-17A
Tratamiento
Confidencial

Figura 30

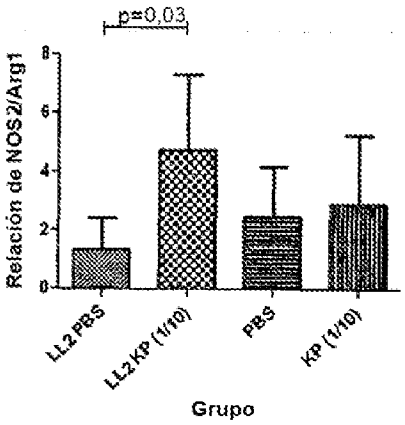

p=0,03
Relación de NOS2/Arg1
8
6
4
2
0
LL2 PBS
LL2 KP (1/10)
PBS
KP (1/10)
Grupo

Figura 31

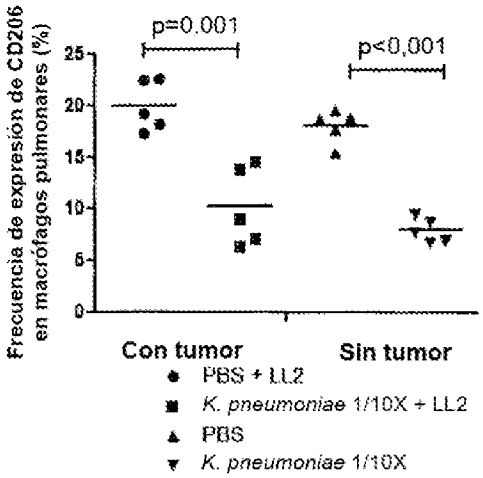

p=0.001
p<0,001
Frecuencia de expresión de CD206 en macrófagos pulmonares (%)
25
20
15
10
5
0
Con tumor
Sin tumor
PBS + LL2
K. pneumoniae 1/10X + LL2
PBS
K. pneumoniae 1/10X

Figura 32

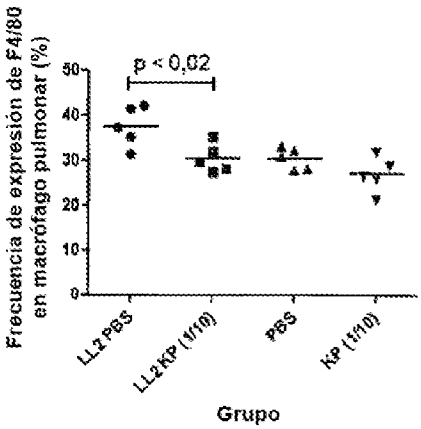

Frecuencia de expresión de F4/80 en macrófago pulmonar (%)
p < 0,02
50
40
30
20
10
0
LL2 PBS
LL2 KP (1/10)
PBS
KP (1/10)
Grupo

Figura 33

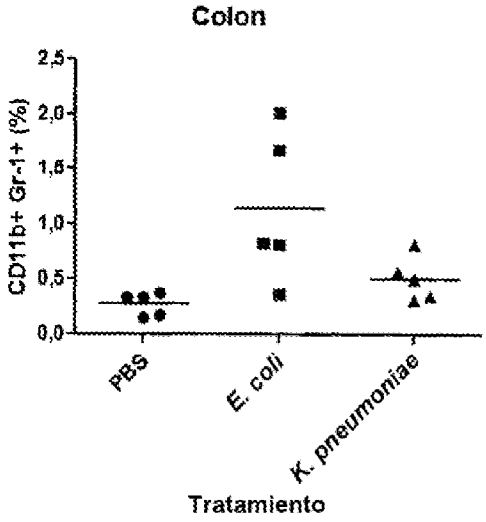

Colon
CD11b+ Gr-1+ (%)
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
PBS
E. coli
K. pneumoniae
Tratamiento

Figura 34

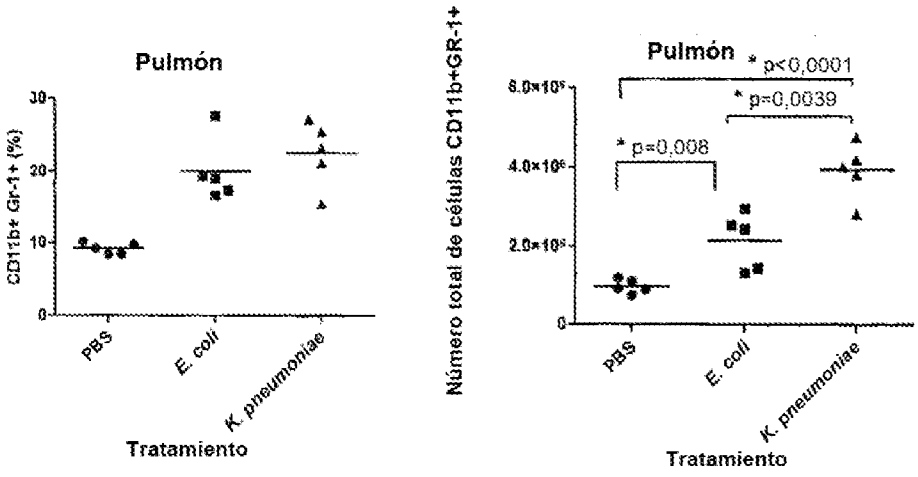

Pulmón
CD11b+ Gr-1+ (%)
30
20
10
0
PBS
E. coli
K. pneumoniae
Tratamiento
Pulmón
* p<0,0001
* p=0,0039
* p=0,008
Número total de células CD11b+GR-1+
8,0x10⁶
4,0x10⁶
2,0x10⁶
0
PBS
E. coli
K. pneumoniae
Tratamiento

Figura 35

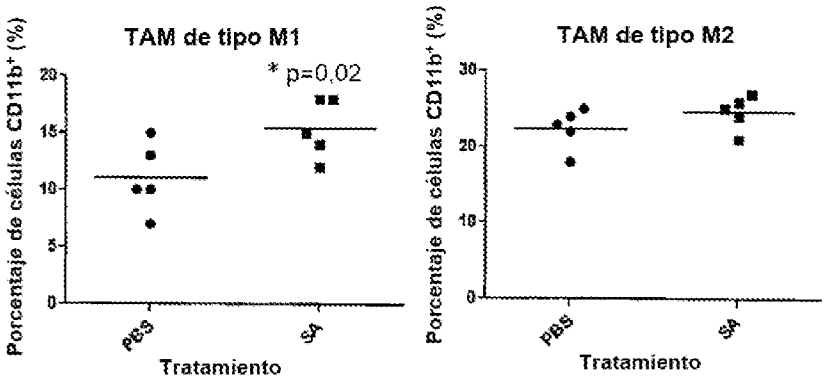

TAM de tipo M1
* p=0,02
Porcentaje de células CD11b+ (%)
20
15
10
5
0
PBS
SA
Tratamiento
TAM de tipo M2
Porcentaje de células CD11b+ (%)
30
20
10
0
PBS
SA
Tratamiento

Figura 36

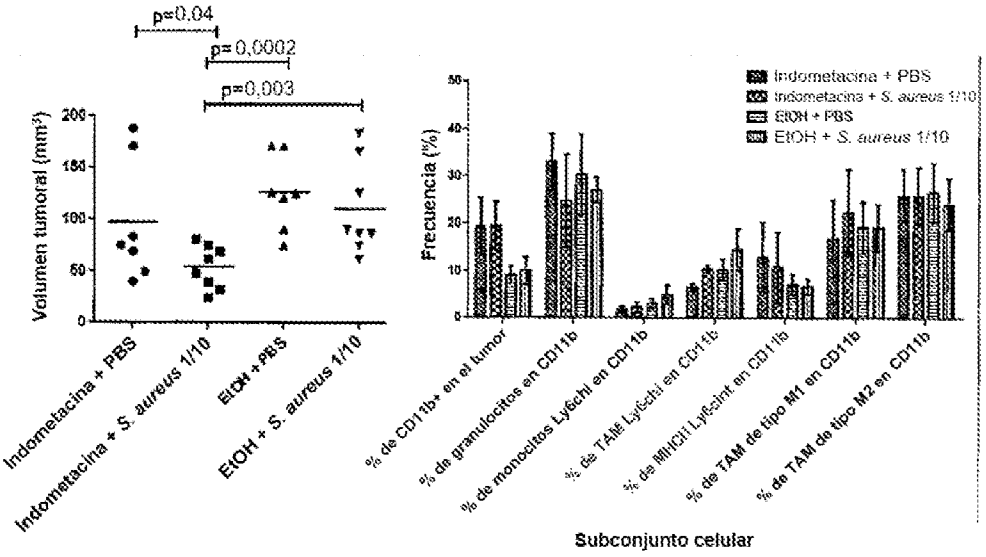

p=0,04
p= 0,0002
p=0,003
Volumen tumoral (mm³)
200
150
100
50
0
Indometacina + PBS
Indometacina + S. aureus 1/10
EtOH + PBS
EtOH + S. aureus 1/10
Frecuencia (%)
50
40
30
20
10
0
Indometacina + PBS
Indometacina + S. aureus 1/10
EtOH + PBS
EtOH + S. aureus 1/10
% de CD11b+ en el tumor
% de granulocitos en CD11b
% de monocitos Ly6chi en CD11b
% de TAM Ly6chi en CD11b
% de MHCII Ly6c/int en CD11b
% de TAM de tipo M1 en CD11b
% de TAM de tipo M2 en CD11b
Subconjunto celular

Figura 37

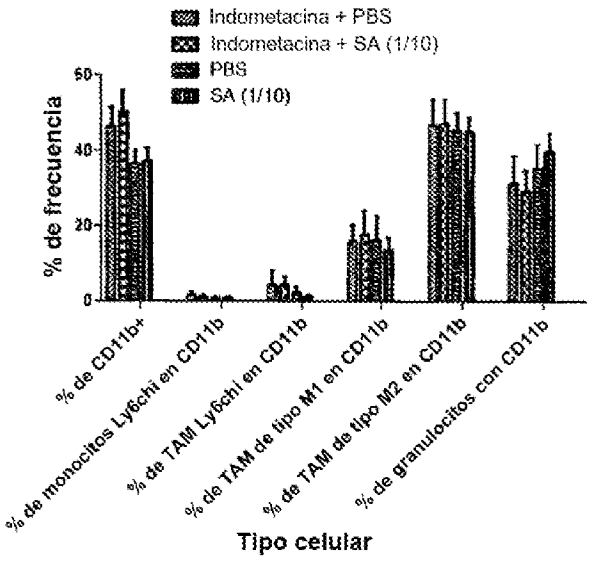

Indometacina + PBS
Indometacina + SA (1/10)
PBS
SA (1/10)
% de frecuencia
60
40
20
0
% de CD11b+
% de monocitos Ly6chi en CD11b
% de TAM Ly6chi en CD11b
% de TAM de tipo M1 en CD11b
% de TAM de tipo M2 en CD11b
% de granulocitos con CD11b
Tipo celular

Figura 38

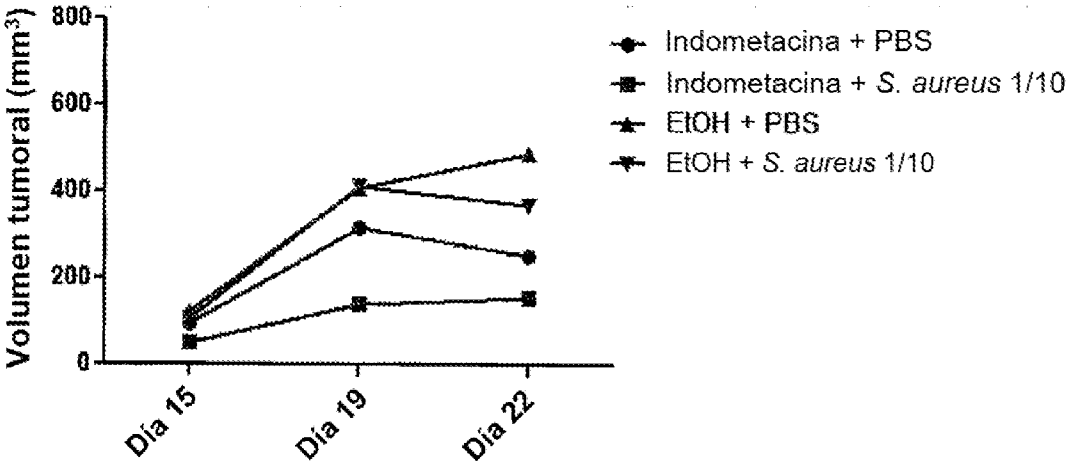

Volumen tumoral (mm3)
800
600
400
200
0
Día 15
Día 19
Día 22
Indometacina + PBS
Indometacina + S. aureus 1/10
EtOH + PBS
EtOH + S. aureus 1/10

Figura 39

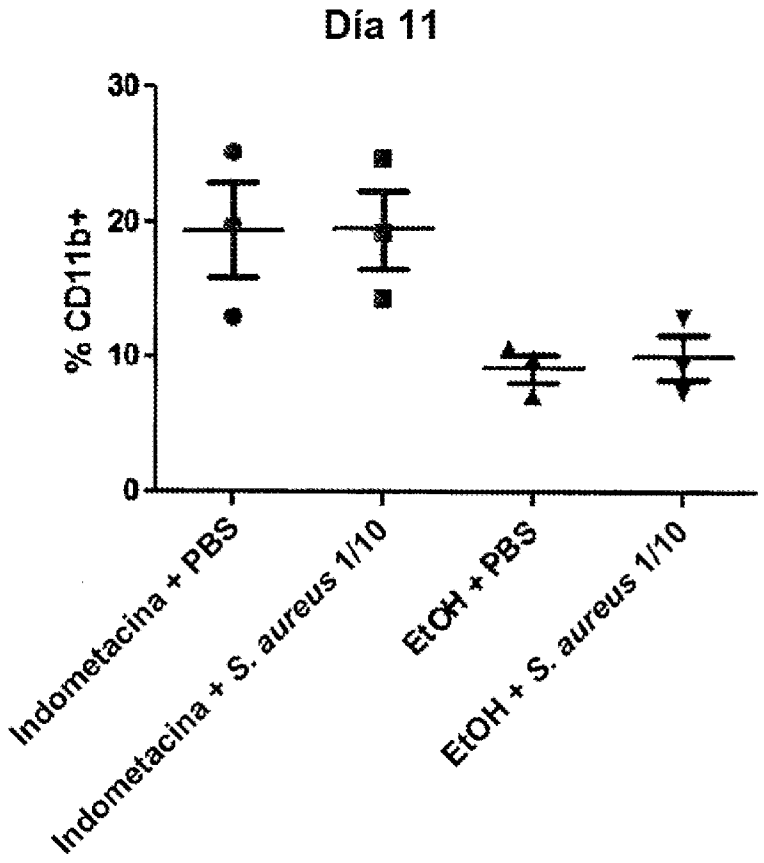

Día 11
% CD11b+
30
20
10
0
Indometacina + PBS
Indometacina + S. aureus 1/10
EtOH + PBS
EtOH + S. aureus 1/10

Figura 40

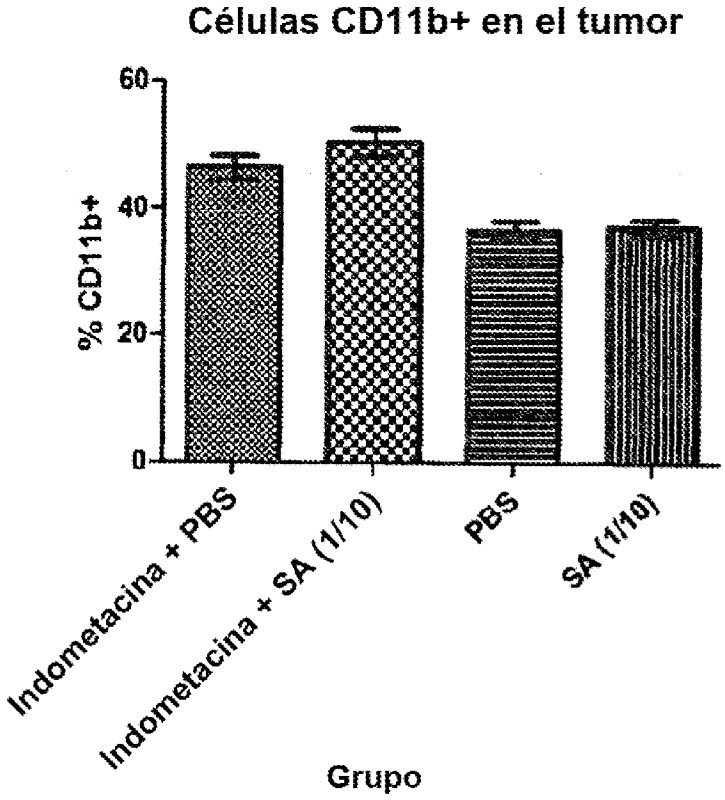

Células CD11b+ en el tumor
% CD11b+
60
40
20
0
Indometacina + PBS
Indometacina + SA (1/10)
PBS
SA (1/10)
Grupo

Figura 41

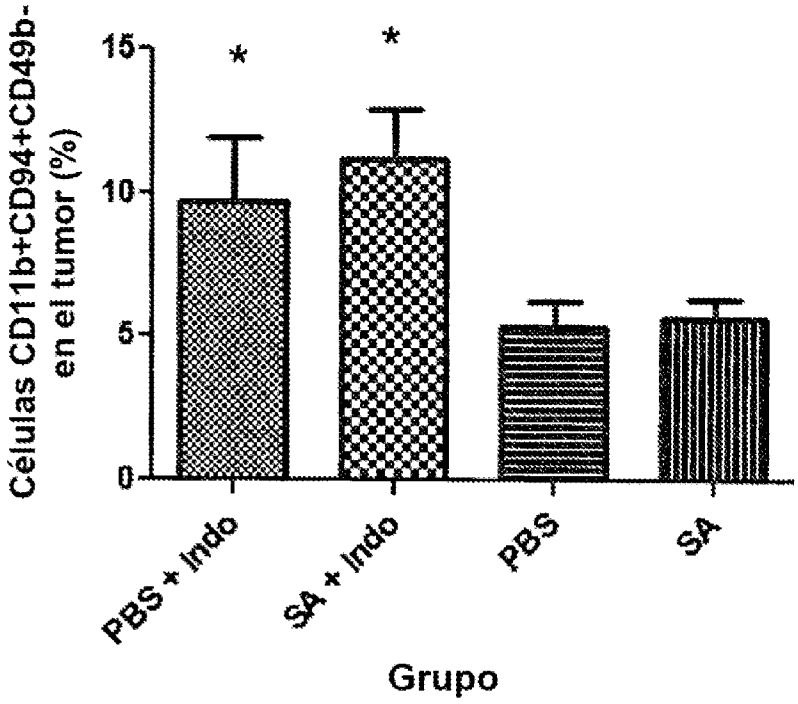
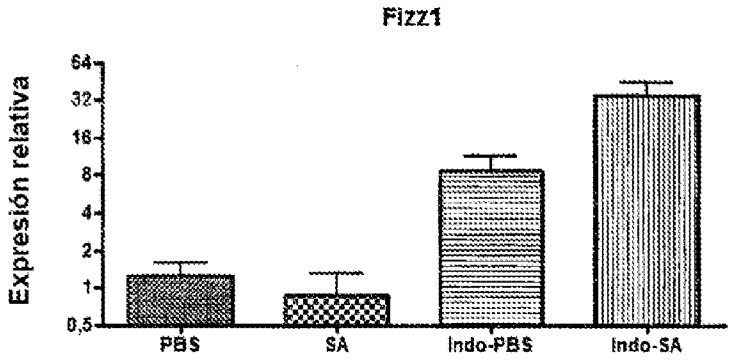

Células CD11b+CD94+CD49b- en el tumor (%)
15
10
5
0
*
*
PBS + Indo
SA + Indo
PBS
SA
Grupo

Figura 42

A


Fizz1
Expresión relativa
64
32
16
8
4
2
1
0,5
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA

B

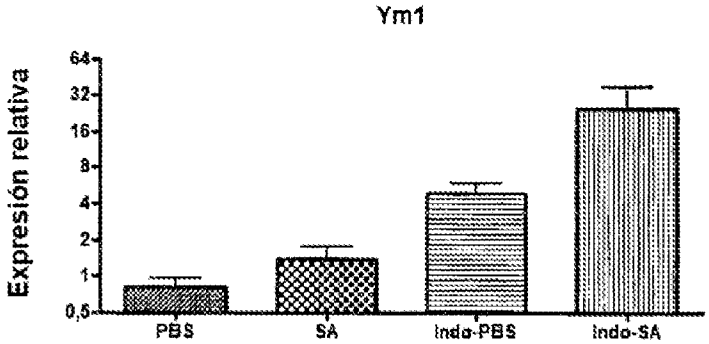

Ym1
Expresión relativa
64
32
16
8
4
2
1
0,5
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA

Figura 43

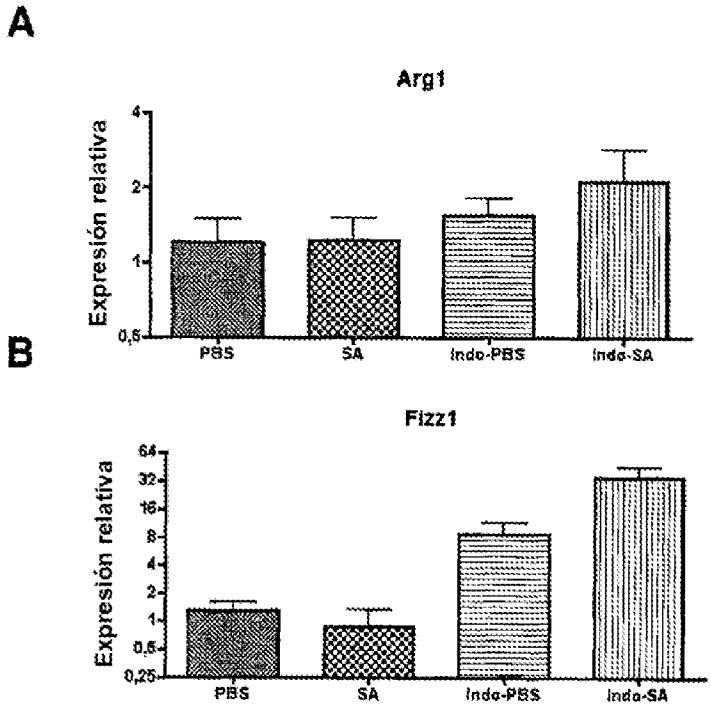
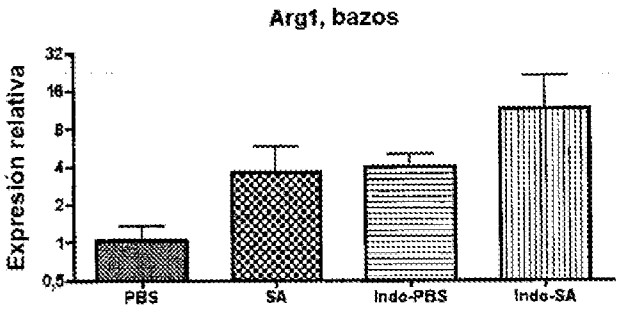

A
Arg1
Expresión relativa
4
2
1
0,5
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA
B
Fizz1
Expresión relativa
64
32
16
8
4
2
1
0,5
0,25
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA

Figura 44

C



D

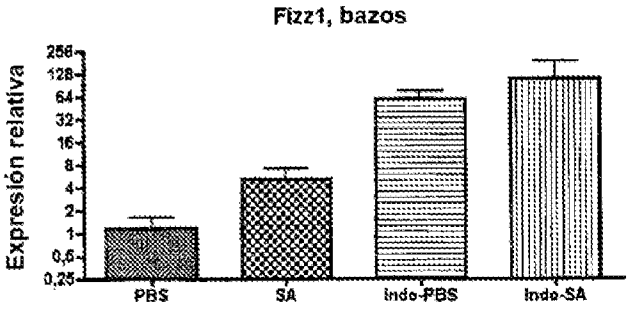


Figura 44 continuación

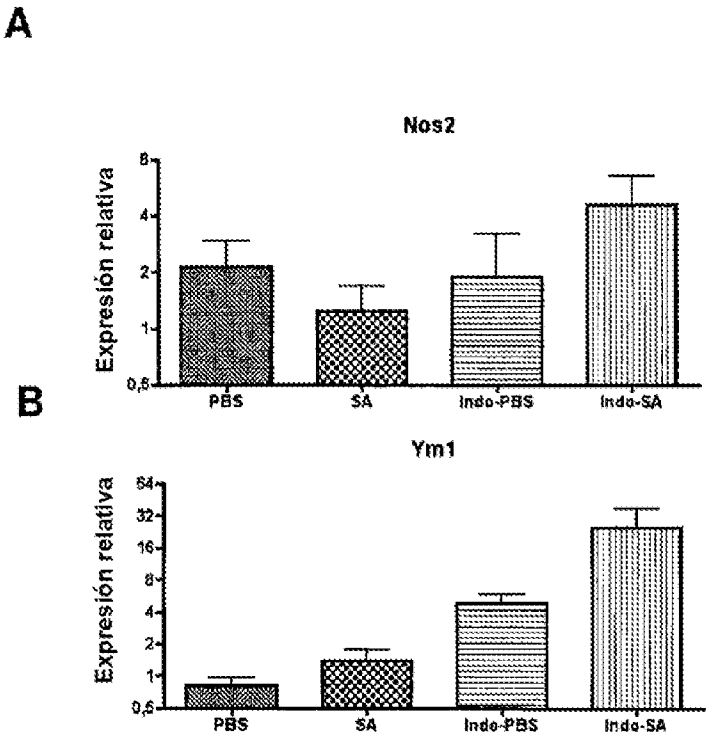
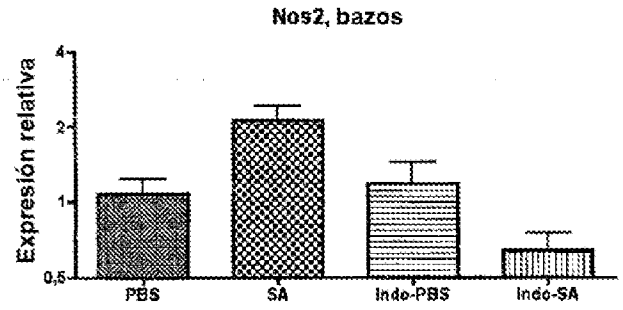

A
Nos2
Expresión relativa
8
4
2
1
0,5
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA
B
Ym1
Expresión relativa
64
32
16
8
4
2
1
0,5
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA

Figura 45

C



D

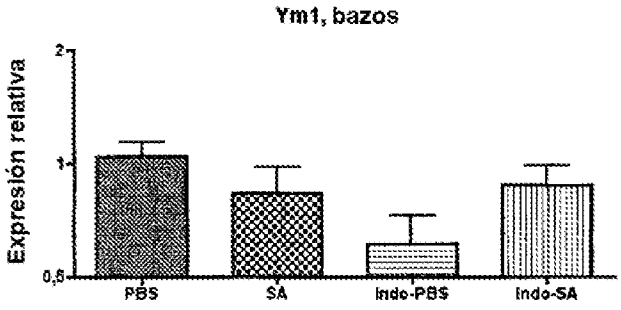


Figura 45 continuación

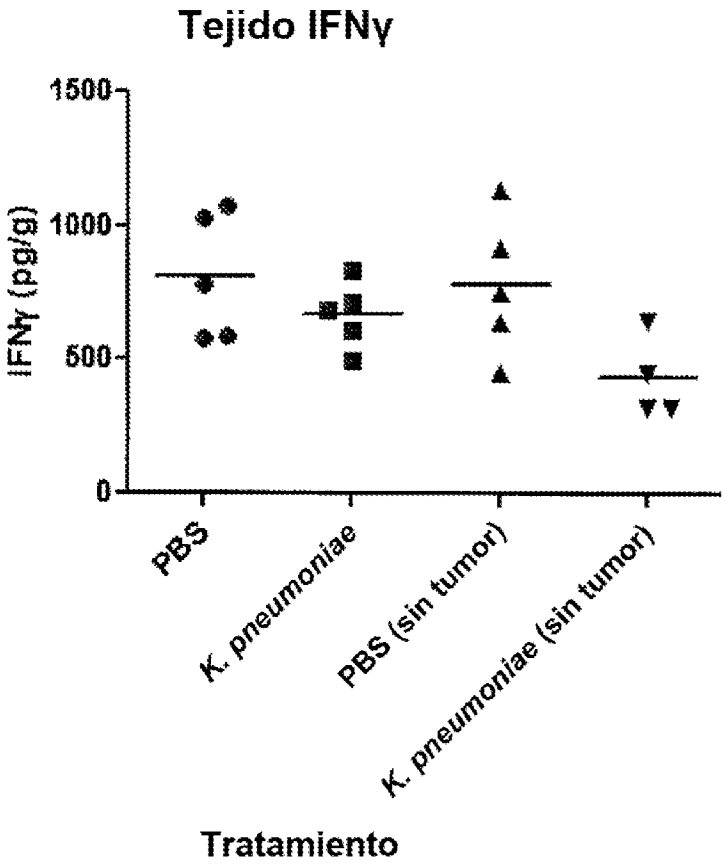

Tejido IFNγ
1500
1000
500
0
IFNγ (pg/g)
PBS
K. pneumoniae
PBS (sin tumor)
K. pneumoniae (sin tumor)
Tratamiento

Figura 46

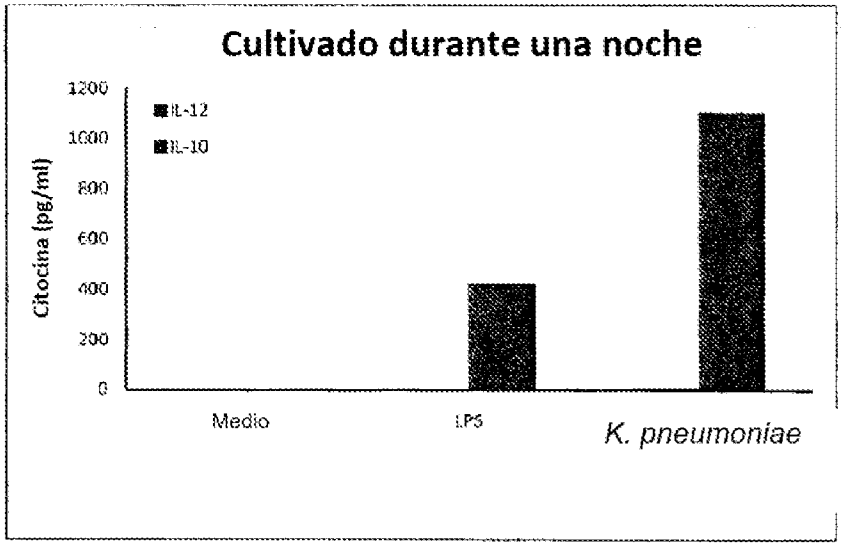

Cultivado durante una noche
Citocina (pg/ml)
1200
1000
800
600
400
200
0
IL-12
IL-10
Medio
LPS
K. pneumoniae

Figura 47

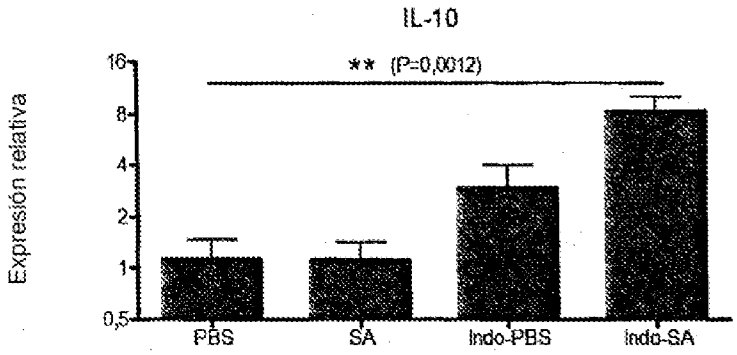

IL-10
** (P=0,0012)
Expresión relativa
16
8
4
2
1
0,5
PBS
SA
Indo-PBS
Indo-SA

Figura 48