

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 427**

51 Int. Cl.:

A61K 35/745 (2015.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.09.2020 PCT/IB2020/058769**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.03.2021 WO21053636**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2020 E 20792714 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2024 EP 4031157**

54 Título: **Cepas bacterianas, sus composiciones y su uso para el tratamiento de trastornos gastrointestinales**

30 Prioridad:

20.09.2019 IT 201900016811

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

05.07.2024

73 Titular/es:

**ALFASIGMA S.P.A. (100.0%)
Via Ragazzi del '99, 5
40133 Bologna, IT**

72 Inventor/es:

**BIFFI, ANDREA y
FIORE, WALTER**

74 Agente/Representante:

MENDIGUTÍA GÓMEZ, María Manuela

ES 2 975 427 T3

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

DESCRIPCIÓN

Cepas bacterianas, sus composiciones y su uso para el tratamiento de trastornos gastrointestinales

5 La presente invención se refiere a nuevas cepas bacterianas tales como: una cepa que pertenece a la especie *Bifidobacterium breve* identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBS01 (DSM 33231), una cepa que pertenece a la especie *Bifidobacterium breve* identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBS02 (DSM 33232), una cepa que pertenece a la especie *Bifidobacterium animalis* identificada como *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BbIBS01 (DSM 33233) y una cepa que pertenece a la especie *Lactobacillus plantarum* identificada como *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 (DSM 33234).

Además, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden una mezcla que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg o BbfbIBS01 (DSM 32708), al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en dicha *Bifidobacterium breve* BbIBS01 (DSM 33231), *Bifidobacterium breve* BbIBS02 (DSM 33232), *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BbIBS01 (DSM 33233) y *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y, opcionalmente, al menos una cepa bacteriana adicional seleccionada del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760).

Por último, la presente invención se refiere a dichas cepas bacterianas o mezclas de las mismas o composiciones de las mismas para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos o síntomas gastrointestinales, en particular trastornos gastrointestinales funcionales tales como, por ejemplo, síndrome del intestino irritable (IBS) y/o trastornos inflamatorios tales como, por ejemplo, enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD).

El síndrome del intestino irritable (abreviado como IBS) pertenece al grupo de trastornos gastrointestinales funcionales (FGID), una categoría de diagnóstico que puede definirse basándose en la presentación sintomática sola y caracterizada por la ausencia de un sustrato patogénico evidente. Los trastornos funcionales gastrointestinales (FGID), también denominados trastornos del eje del intestino-cerebro, son un grupo de trastornos clasificados basándose en síntomas gastrointestinales relacionados con cualquier combinación de: trastornos de la motilidad intestinal, hipersensibilidad visceral, alteración de la función mucosa e inmunitaria, alteración de la microbiota intestinal, alteración de la percepción de estímulos en el sistema nervioso central. El IBS es uno de los trastornos gastrointestinales más comunes, que afecta a aproximadamente el 15-20 % de la población, donde la molestia o dolor abdominal se asocia con cambios en el hábito intestinal. Aunque se notifica en la bibliografía, las alteraciones evidentes de la luz o de la mucosa gastrointestinal a nivel de tejido, célula o molecular son acontecimientos variables y no se han identificado de forma irrefutable en el IBS. Las respuestas inmunitarias alteradas parecen estar implicadas, pero no pueden explicar completamente los síntomas. De manera similar, una alteración de la microbiota intestinal (es decir, una disbiosis) contribuye a la fisiopatología, pero aún no se ha relacionado ningún patógeno específico o patobionte de manera fiable con el IBS.

El síndrome del intestino irritable (IBS) es un trastorno de la función intestinal caracterizado por dolor abdominal relacionado con cambios del tracto intestinal (ya sea en forma de estreñimiento o diarrea) y con signos de timpanitis y defecación alterada. No debe confundirse IBS con la colitis espástica, dado que la colitis espástica es una enfermedad orgánica que surge de la inflamación que causa espasmos y dolor abdominal. De acuerdo con los criterios de Roma IV, el IBS se caracteriza por dolor abdominal recurrente, en promedio, al menos 1 día por semana en los últimos 3 meses, asociado con dos o más de los siguientes criterios: relacionado con la defecación, asociado con un cambio en la frecuencia de las heces, asociado con un cambio en la forma (aspecto) de las heces. Los criterios deben cumplirse durante los últimos 3 meses, con el inicio de los síntomas al menos 6 meses antes del diagnóstico. Dependiendo de las características de las heces, se distinguen cuatro grupos en los que pueden estratificarse los pacientes: IBS con estreñimiento predominante (estreñimiento), IBS con diarrea predominante (diarrea), IBS con estreñimiento y diarrea alternantes, IBS no clasificado.

Actualmente, las terapias disponibles para el tratamiento del IBS están dirigidas a la resolución de los acontecimientos patogénicos subyacentes al IBS. En sujetos con diarrea, la frecuencia de los movimientos intestinales se puede disminuir reduciendo la ingesta alimenticia de hidratos de carbono de cadena corta que se absorben mal en el intestino delgado (Fodmap) tales como fructosa, sorbitol y manitol. Puede ser útil combinar preparaciones a base de caolín tales como diosmectita con estas soluciones. Para sujetos predominantemente con estreñimiento intestinal y con presencia de timpanitis, están disponibles preparaciones con bajas concentraciones de polietilenglicoles/sales minerales, para tomarse diariamente. Además, el uso de linaclotida, un agonista del receptor de guanilato ciclasa C, también está disponible en estos sujetos, que padecen estreñimiento moderado-intenso. El uso de ansiolíticos (tales como benzodiazepinas) en los periodos cortos cuando el paciente reconoce la ansiedad del mismo, es útil para reducir la participación psicológica en el dolor, con reducción del mismo. De manera similar, además de modular directamente el dolor sin alterar la función psíquica, el uso de antidepresivos tales como compuestos tricíclicos y SSRI (inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina) puede mejorar la calidad del sueño y disminuir la frecuencia de ataques. Otras terapias tienen como objetivo el control del dolor; en este sentido, algunos espasmolíticos son particularmente

útiles. Los fármacos anticolinérgicos-antiespasmódicos (fármacos antimuscarínicos), tales como, por ejemplo, atropina, escopolamina, mebeverina, se usan para reducir la secreción gástrica y la motilidad intestinal. De manera similar a la terapia de la enfermedad diverticular, el síndrome timpánico puede reducirse mediante el uso de antibióticos mal absorbibles, tales como, por ejemplo, rifaximina, y probióticos que regulan la flora intestinal.

Sin embargo, los tratamientos anteriormente mencionados a menudo no permiten una resolución completa y duradera de la enfermedad y sus síntomas.

Por lo tanto, sigue existiendo una alta necesidad de proporcionar una solución eficaz para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, en particular trastornos gastrointestinales funcionales, más en particular para el síndrome del intestino irritable (IBS), IBS con estreñimiento, diarrea, estreñimiento y diarrea alternantes y no clasificado.

Además, existe una necesidad de proporcionar una solución eficaz para el tratamiento de trastornos gastrointestinales inflamatorios, tales como, por ejemplo, enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD).

Después de una extensa actividad de investigación y desarrollo, el solicitante aborda y resuelve las necesidades anteriormente mencionadas proporcionando: nuevas cepas de bacterias aisladas, tales como, (I.i) *Bifidobacterium breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *Bifidobacterium breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) (en resumen, nuevas cepas bacterianas (I.i-IV) de la invención o (I.i-IV)); mezclas (M) que comprenden una cepa bacteriana *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg o BbflBS01 (DSM 32708), al menos una o más de dichas cepas bacterianas (I.i-IV) y, opcionalmente, al menos una cepa bacteriana adicional seleccionada del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760) (en resumen, mezclas (M) de la invención); composiciones que comprenden dichas mezclas (M) (en resumen, composiciones de la invención); el uso de dichas cepas, mezclas o composiciones para el tratamiento preventivo y/o curativo de trastornos gastrointestinales, preferiblemente trastornos gastrointestinales funcionales o inflamatorios, más preferiblemente síndrome del intestino irritable (IBS) (IBS con diarrea, estreñimiento, estreñimiento y diarrea alternantes, no clasificado) y/o trastornos gastrointestinales inflamatorios, más preferiblemente enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), como se notifica en la presente descripción y en las reivindicaciones

Lactobacillus plantarum LpIBS01 (DSM 33234) se aisló del tracto gastrointestinal humano. Las bifidobacterias en cuestión, tales como *Bifidobacterium breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *Bifidobacterium breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233), son de origen humano y se encuentran de manera natural en el intestino humano.

Específicamente, dichas nuevas cepas bacterianas de la invención (I.i-IV) o derivados de las mismas, mezclas (M) de cepas bacterianas de la presente invención y composiciones que comprenden dichas mezclas (M) de la presente invención, son eficaces en el tratamiento preventivo y/o curativo de trastornos gastrointestinales, en particular con respecto a trastornos gastrointestinales funcionales, tales como, por ejemplo, IBS, dado que determinan:

- al nivel de la microbiota intestinal, una modulación positiva de las poblaciones microbianas presentes, como por ejemplo un aumento de la población bacteriana del género *Lactobacillus* y del género *Bifidobacterium*, al mismo tiempo, una disminución significativa en la población bacteriana que pertenece al género *Ruminococcus*, un patobionte asociado normalmente con IBS;
- un aumento en la concentración intestinal de ácidos grasos de cadena corta, en particular ácido butírico y/o acético;
- una modulación positiva del nivel de productos metabólicos bacterianos (metabolómica), tales como, por ejemplo, aminoácidos libres y aminos biogénicas;
- una modulación positiva de la ruta inflamatoria, con, por ejemplo, una disminución en las citocinas proinflamatorias, tales como IL-6 y/o IL-15 u otras;
- una mejora en la permeabilidad intestinal, evaluada, por ejemplo, a través de los niveles séricos de zonulina, citrulina y PV-1;
- una modulación positiva al nivel de la ruta serotoninérgica.

Además, las cepas bacterianas comprendidas en las mezclas y composiciones de la presente invención, tales como cepas que pertenecen al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, producen una variedad de efectos beneficiosos dado que cada especie ejerce una acción distinta sobre el tracto gastrointestinal por medio de diversos mecanismos tales como, por ejemplo, secretar bacteriocinas, modular el sistema inmunitario del huésped y así sucesivamente. Tales acciones pueden ser complementarias o sinérgicas.

Además, dichas nuevas cepas bacterianas (I.I-IV), las mezclas (M) de las cepas bacterianas y las composiciones que comprenden dichas mezclas (M) de la presente invención afectan a la expresión de diferentes genes implicados en las respuestas inmunitarias en el intestino, en particular en el íleon, lo que hace que su actividad antiinflamatoria/reguladora en el intestino sea plausible. Por lo tanto, las cepas bacterianas, las mezclas y las composiciones de la invención son adecuadas y eficaces en el tratamiento preventivo y/o curativo de trastornos gastrointestinales inflamatorios, tales como enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD).

Aunque se han usado cepas bacterianas probióticas en la técnica anterior para mejorar los síntomas de IBS, sigue desconociéndose en gran medida la eficacia precisa de los probióticos en el IBS. Dado que las cepas bacterianas probióticas pertenecen a diferentes cepas y especies, no hay ninguna conclusión definitiva en la bibliografía sobre qué cepa y especie son más eficaces.

Además, las nuevas cepas bacterianas, las mezclas y las composiciones de la invención no tienen efectos adversos significativos y pueden administrarse a todos los sujetos, particularmente a sujetos pediátricos y mujeres embarazadas.

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

Estos y otros objetos que quedarán claros a partir de la siguiente descripción detallada, se logran mediante las cepas bacterianas, mediante las mezclas y mediante las composiciones de la presente invención gracias a las características técnicas presentes en la descripción y reivindicadas en las reivindicaciones adjuntas.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende una mezcla M que comprende o, alternativamente, que consiste en:

- una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 32708 el 4 de diciembre de 2017 por Sofar S.p.A.; y

- al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en:

- una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBSO1 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33231 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

- una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBSO2 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33232 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

- una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BbIBSO1 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33233 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

- una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus plantarum* LpIBSO1 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33234 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A., y mezclas de las mismas; y, opcionalmente, dicha composición comprende al menos un aditivo y/o excipiente de calidad alimentaria o farmacéutica. La presente invención también se refiere a la composición para su uso como medicamento.

La composición según la invención es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales funcionales.

La composición según la invención es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales inflamatorios.

Descripción de las figuras

Figura 1: diseño del ensayo clínico con las fases de preinclusión, tratamiento, cruce, tratamiento y seguimiento.

Descripción detallada de la invención

Forma un objeto de la presente invención una cepa bacteriana que pertenece a la especie *Bifidobacterium breve* identificada como (I.I) *Bifidobacterium breve* BbIBSO1, o un derivado de la misma, en donde dicha cepa bacteriana se

depositó tal como se dispone en el Tratado de Budapest, en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33231 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A. (en resumen, BbIBS01 o *B. breve* BbIBS01 DSM 33231 o (I.i)).

5 Forma un objeto de la presente invención una cepa bacteriana que pertenece a la especie *Bifidobacterium breve* identificada como (I.ii) *Bifidobacterium breve* BbIBS02, o un derivado de la misma, en donde dicha cepa bacteriana se depositó de acuerdo con el Tratado de Budapest, en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33232 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A. (en resumen, BbIBS02 o *B. breve* BbIBS02 DSM 33232 o (I.ii)).

10 Forma un objeto de la presente invención una cepa bacteriana que pertenece a la especie *Bifidobacterium animalis* identificada como (I.iii) *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BbIBS01, o un derivado de la misma, en donde dicha cepa bacteriana se depositó de acuerdo con el Tratado de Budapest, en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33233 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A. (en resumen, BbIBS01 o *B. animalis subsp. lactis* BbIBS01 DSM 33233 o (I.iii)).

15 Forma un objeto de la presente invención una cepa bacteriana que pertenece a la especie *Lactobacillus plantarum* identificada como (I.iv) *Lactobacillus plantarum* LpIBS01, o un derivado de la misma, en donde dicha cepa bacteriana se depositó de acuerdo con el Tratado de Budapest, en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33234 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A. (en resumen, LpIBS01 o *L. plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o (I.iv)).

20 Preferiblemente, las cepas bacterianas de la presente invención (es decir (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv), (II.i), (II.ii), (III)) son cepas bacterianas viables (vivas y viables), tales como, por ejemplo, cepas bacterianas viables presentes en productos probióticos o en *productos bioterapéuticos vivos* (en resumen, LBP, tal como productos farmacéuticos que comprenden cepas bacterianas viables).

25 Los “probióticos” son microorganismos vivos y viables (es decir, cepas bacterianas) que, cuando se administran en una cantidad adecuada, confieren beneficios para la salud del huésped; el término “probióticos” se refiere a microorganismos presentes en o añadidos a los alimentos (definición de la FAO y la OMS).

30 En el contexto de la presente invención, el término “derivado” o “derivados” de una cepa bacteriana de la presente invención (es decir (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv), (II.i), (II.ii), (III)) se usa para indicar una cepa bacteriana tinalizada o inactivada (por ejemplo, por radiación gamma o sonicación), o lisados o extractos de la cepa bacteriana (paraprobióticos), o cualquier derivado y/o componente de la cepa bacteriana, preferiblemente exopolisacárido, fracción parietal, metabolitos o bioproductos metabólicos generados por la cepa bacteriana (postbióticos) y/o cualquier otro producto derivado de la cepa bacteriana. Preferiblemente, el término “derivado” de las cepas bacterianas de la presente invención se usa para indicar la cepa bacteriana tinalizada o inactivada.

35 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, en las mezclas (M) de la invención o en las composiciones de la invención, parte de las cepas bacterianas pueden ser viables y parte de las cepas bacterianas pueden estar en forma de derivados, como se definió anteriormente (por ejemplo, tinalizadas).

40 Forma un objeto de la presente invención una mezcla (M) de cepas bacterianas (en resumen, mezcla (M) de la invención) que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), o un derivado de la misma, y al menos una o más cepas bacterianas, o un derivado de las mismas, seleccionadas del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BbIBS01 (DSM 33233), (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y mezclas de las mismas.

45 Una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (denominada alternativamente por el solicitante *Bifidobacterium bifidum* Bbfl BS01 o *Bifidobacterium bifidum* BbflBLPC-S01) se depositó, según el Tratado de Budapest, en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 32708 el 4 de diciembre de 2017 por Sofar S.p.A. (en resumen, MIMBb23sg o BbflBS01 o BbflBLPC-S01 o *B. bifidum* MIMBb23sg DSM 32708 o (III)). Debe observarse que se trata todavía y exclusivamente de la misma cepa bacteriana independientemente del nombre interno MIMBb23sg o BbflBS01 o BbflBLPC-S01, usado por el solicitante. La cepa bacteriana *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg DSM 32708 es una cepa aislada de las heces de una mujer adulta sana.

50 En el contexto de la presente invención se definen los siguientes grupos/mezclas de cepas bacterianas:

una mezcla que comprende una única cepa bacteriana seleccionada del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en: (I.i), (I.ii), (I.iii) y (I.iv); en resumen, mezcla M.1;

55 una mezcla que comprende dos cepas bacterianas seleccionadas del grupo M.2 que consiste en: (I.i) y (I.ii), (I.i) y (I.iii), (I.i) y (I.iv), (I.ii) y (I.iii), (I.ii) y (I.iv), (I.iii) y (I.iv); en resumen, mezcla M.2;

una mezcla que comprende tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo M.3 que consiste en: (I.i) y (I.ii) y (I.iii), (I.i) y (I.ii) y (I.iv), (I.i) y (I.iii) y (I.iv), (I.ii) y (I.iii) y (I.iv); en resumen, mezcla M.3;

- 5 una mezcla que comprende cuatro cepas bacterianas seleccionadas del grupo M.4 que consiste en: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234); en resumen, mezcla M.4.

10 Además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención puede comprender una única cepa bacteriana seleccionada del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en: (I.i), (I.ii), (I.iii) y (I.iv); en resumen, mezcla (III)+M.1.

15 Además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención puede comprender dos cepas bacterianas seleccionadas del grupo M.2 que consiste en: (I.i) y (I.ii), (I.i) y (I.iii), (I.i) y (I.iv), (I.ii) y (I.iii), (I.ii) y (I.iv), (I.iii) y (I.iv); en resumen, mezcla (III)+M.2.

20 Además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención puede comprender tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo M.3 que consiste en: (I.i) y (I.ii) y (I.iii), (I.i) y (I.ii) y (I.iv), (I.i) y (I.iii) y (I.iv), (I.ii) y (I.iii) y (I.iv); en resumen, mezcla (III)+M.3.

25 Además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención puede comprender cuatro cepas bacterianas seleccionadas del grupo M.4 que consiste en: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234); en resumen, mezcla (III)+M.4.

30 Además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), o un derivado de la misma, y además de al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, o un derivado de las mismas, en una realización de la presente invención, la mezcla (M) de la invención comprende al menos una cepa bacteriana adicional seleccionada del grupo B que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), y una mezcla de las mismas.

35 Una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus casei* DG® (marca comercial registrada por SOFAR S.p.A.) se depositó por SOFAR S.p.A. en la Colección Nacional de Cultivos de microorganismos del Instituto Pasteur en París con el número de registro CNCM I-1572 el 5 de mayo de 1995 por SOFAR S.p.A. (en resumen, DG® o *L. casei* DG® CNCM I-1572 o (II.i)); la cepa se denominó inicialmente *Lactobacillus casei* DG® *sub.casei*; posteriormente se reclasificó como *Lactobacillus paracasei* DG® CNCM I-1572. Debe observarse que se trata todavía y exclusivamente de la misma cepa bacteriana independientemente del nombre *Lactobacillus casei* DG® CNCM I-1572 o *Lactobacillus paracasei* DG® CNCM I-1572.

40 Una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™, alternativamente denominada *Lactobacillus paracasei* S01, se depositó en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de registro DSM 26760 el 15 de mayo de 2017 por SOFAR S.p.A. (fecha de solicitud para la conversión del depósito en un depósito de acuerdo con el Tratado de Budapest; fecha del depósito original: 11 de enero de 2013) (en resumen, LPC-S01 o *L. paracasei* LPC-S01 DSM 26760 o (II.ii)). Debe observarse que se trata todavía y exclusivamente de la misma cepa bacteriana independientemente del nombre usado por el solicitante *Lactobacillus paracasei* S01 DSM 26760 o *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ DSM 26760.

45 En una realización preferida de la presente invención, además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, la mezcla (M) de la invención, comprende además la cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), o derivados de la misma (es decir, mezcla (III)+(M)+(II.i), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4).

50 En una realización de la presente invención, además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, la mezcla (M) de la invención comprende además una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), o derivados de la misma (es decir, mezcla (III)+(M)+(II.ii), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4).

55 En una realización de la presente invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, la mezcla (M) de la invención comprende además una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y la cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), o derivados de la misma (es decir, mezcla (III)+(M)+(II.i)+(II.ii), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4).

60 Según un aspecto de la invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención comprende una cepa bacteriana seleccionada del grupo A (o grupo de

mezclas M.1), como se define en la presente invención, y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), o derivados de la misma (es decir: (III) y (I.i) y (II.i), (III) y (I.ii) y (II.i), (III) y (I.iii) y (II.i), (III) y (I.iv) y (II.i); en resumen, mezcla (III)+ M.1+ (II.i)).

5 Según un aspecto de la invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención comprende dos cepas bacterianas seleccionadas del grupo de mezclas M.2, como se define en la presente invención, y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), o derivados de la misma (es decir: (III) y (I.i) y (I.ii) y (II.i), (III) y (I.i) y (I.iii) y (II.i), (III) y (I.i) y (I.iv) y (II.i), (III) y (I.ii) y (I.iii) y (II.i), (III) y (I.ii) y (I.iv) y (II.i), (III) y (I.iii) y (I.iv) y (II.i); en resumen, mezcla (III)+ M.2+ (II.i)).

10 Según un aspecto de la invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención comprende tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo de mezclas M.3, como se define en la presente invención, y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), o derivados de la misma (es decir: (III) y (I.i) y (I.ii) y (I.iii) y (II.i), (III) y (I.i) y (I.ii) y (I.iv) y (II.i), (III) y (I.i) y (I.iii) y (I.iv) y (II.i), (III) y (I.ii) y (I.iii) y (I.iv) y (II.i); en resumen, mezcla (III)+ M.3+ (II.i)).

15 En una realización preferida de la presente invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención comprende las cuatro cepas bacterianas (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), o derivados de las mismas (en resumen, mezcla (III)+M.4+ (II.i)).

20 En una realización de la presente invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención comprende las cuatro cepas bacterianas (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), o derivados de las mismas (en resumen, mezcla (III)+M.4+ (II.ii)).

25 En una realización de la presente invención, además de la cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), dicha mezcla (M) de la invención comprende las cuatro cepas bacterianas (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM L 33234) y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), o derivados de las mismas (en resumen, mezcla (III)+M.4+(II.i)+(II.ii)).

30 En el contexto de la presente invención, la expresión “mezcla(s) (M) de la invención” se usa para indicar las mezclas (III)+M.1, (III)+M.2, (III)+M.3, (III)+M.4, (III)+M.1+(II.i), (III)+M.1+(II.ii), (III)+M.1+(II.i)+(II.ii), (III)+M.2+(II.i), (III)+M.2+(II.ii), (III)+M.2+(II.i)+(II.ii), (III)+M.3+(II.i), (III)+M.3+(II.ii), (III)+M.3+(II.i)+(II.ii), (III)+M.4+(II.i), (III)+M.4+(II.ii) y (III)+M.4+(II.i)+(II.ii), como se define en el contexto de la presente invención.

35 Forma un objeto de la presente invención una composición (en resumen, composición de la invención) que comprende una mezcla (M) que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y al menos una o más cepas bacterianas (es decir, dos, tres o cuatro cepas), o un derivado de las mismas, seleccionadas del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234), y, opcionalmente, dicha composición comprende al menos un aditivo y/o excipiente de calidad alimentaria o farmacéutica.

40 En el contexto de la presente invención, la expresión “composición/composiciones de la invención” se usa para indicar las composiciones que comprenden las mezclas (III)+M.1, (III)+M.2, (III)+M.3, (III)+M.4, (III)+M.1+(II.i), (III)+M.1+(II.ii), (III)+M.1+(II.i)+(II.ii), (III)+M.2+(II.i), (III)+M.2+(II.ii), (III)+M.2+(II.i)+(II.ii), (III)+M.3+(II.i), (III)+M.3+(II.ii), (III)+M.3+(II.i)+(II.ii), (III)+M.4+(II.i), (III)+M.4+(II.ii) y (III)+M.4+(II.i)+(II.ii), como se define en el contexto de la presente invención.

45 En una realización, la composición de la invención comprende una mezcla ((III) +M.1) que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y una cepa bacteriana seleccionada del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en: (I.i), (I.ii), (I.iii) y (I.iv). En una realización, la composición de la invención comprende una mezcla ((III) +M.2) que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y dos cepas bacterianas seleccionadas del grupo de mezclas M.2 como se define en la presente invención.

50 En una realización, la composición de la invención comprende una mezcla ((III) +M) que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo de mezclas M.3 como se define en la presente invención.

65

En una realización preferida, la composición de la invención comprende una mezcla ((III) +M.4) que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y cuatro cepas bacterianas, tales como: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) (en resumen, (III), (I.i), (I.ii), (I.iii) y (I.iv)).

En una realización de la presente invención, la composición de la invención comprende la mezcla (M) de la invención que, además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y además de al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, comprende al menos una cepa bacteriana adicional seleccionada del grupo B que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* S01 (DSM 26760), tal como la mezcla (III)+M+ (II.i) o la mezcla (III)+M+ (II.ii) o la mezcla (III)+M+ (II.i) + (II.ii), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4 como se define en el contexto de la presente invención.

En una realización preferida de la presente invención, la composición de la invención comprende la mezcla (M) de la invención que, además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y además al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, comprende además una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), o derivados de la misma (es decir, mezcla (III)+(M)+ (II.i), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4).

En una realización de la presente invención, la composición de la invención comprende la mezcla (M) de la invención que, además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y además al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, comprende además una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o derivados de la misma (es decir, mezcla (III)+(M)+(II.ii), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4).

En una realización de la presente invención, la composición de la invención comprende la mezcla (M) de la invención que, además de una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y además de al menos una o más cepas bacterianas seleccionadas del grupo A, comprende además una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), o derivados de las mismas (es decir, mezcla (III)+(M)+(II.i)(II.ii), en donde M puede ser M.1, M.2, M.3 o M.4).

De acuerdo con un aspecto de la invención, la composición de la invención comprende dicha mezcla ((III) +M.1+ (II.i)) de la invención que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y una cepa bacteriana seleccionada del grupo A (o grupo de mezclas M.1), como se define en la presente invención, y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572).

De acuerdo con un aspecto de la invención, la composición de la invención comprende dicha mezcla ((III) +M.2+ (II.i)) de la invención que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y dos cepas bacterianas seleccionadas del grupo de mezclas M.2, como se define en la presente invención, y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572). De acuerdo con un aspecto de la invención, la composición de la invención comprende dicha mezcla ((III) +M.3+ (II.i)) de la invención que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y tres cepas bacterianas seleccionadas del grupo de mezclas M.3, como se define en la presente invención, y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572).

En una realización preferida de la presente invención, la composición de la invención comprende dicha mezcla ((III) + (M.4) + (II.i)) de la invención que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y cuatro cepas bacterianas (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y una cepa bacteriana (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572).

En una realización de la presente invención, la composición de la invención comprende dicha mezcla ((III) + (M.4) + (II.ii)) de la invención que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y cuatro cepas bacterianas (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y una cepa bacteriana (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760).

De acuerdo con un aspecto de la invención, la composición de la invención comprende dicha mezcla ((III) + (M.4) + (II.i) + (II.ii)) de la invención que comprende o, alternativamente, que consiste en: una cepa bacteriana (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) y las cuatro cepas bacterianas (I.i), (I.ii), (I.iii) y (I.iv) y las cepas bacterianas (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) y (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760).

Preferiblemente, dichas cepas bacterianas (es decir, (III), (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv), (II.i) y/o (II.ii)) están comprendidas, independientemente unas de otras, en las mezclas (M) de la invención a una concentración comprendida en el intervalo de desde 1×10^6 UFC hasta 1×10^{12} UFC, preferiblemente desde 1×10^7 UFC hasta 1×10^{11} UFC, más preferiblemente

desde 1×10^8 UFC hasta 1×10^{10} UFC, por ejemplo 1×10^9 UFC, con respecto a la ingesta diaria (UFC: unidad formadora de colonias).

5 En una realización preferida, la mezcla (III) +M.4 o (III) +M.4+ (II.i) o (III) +M.4+ (II.ii) (III) +M.4+ (II.i) + (II.ii) o las composiciones relativas de la invención comprenden, independientemente unas de otras, cada una de las cepas bacterianas (III), (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv) y, opcionalmente, (II.i) y/o (II.ii) a una concentración comprendida en el intervalo de desde 1×10^6 UFC hasta 1×10^{12} UFC, preferiblemente desde 1×10^7 UFC hasta 1×10^{11} UFC, más preferiblemente desde 1×10^8 UFC hasta 1×10^{10} UFC, por ejemplo 1×10^9 UFC, con respecto a la ingesta diaria.

10 Preferiblemente, en la mezcla (III)+M.2 o (III)+M.1+(II.i) o (III)+M.1+(II.ii) las cepas bacterianas están a una razón de aproximadamente 1:1:1, en la mezcla (III)+M.3 o (III)+M.2+(II.i) o (III)+M.2+(II.ii) las cepas bacterianas están a una razón de aproximadamente 1:1:1:1, en la mezcla (III)+M.4 o (III)+M.3+(II.i) o (III)+M.3+(II.ii) las cepas bacterianas están a una razón de aproximadamente 1:1:1:1:1, en la mezcla (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii) las cepas bacterianas están a una razón de aproximadamente 1:1:1:1:1:1, en la mezcla (III)+M.4+(II.i)+(II.ii) las cepas bacterianas están a una razón de aproximadamente 1:1:1:1:1:1; en donde dichas razones son con respecto a las UFC.

15 En una realización, además de una de dichas mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M4 o (III)+M. 4+(II.i) o (III)+M. 4+ (II.ii)), la composición de la presente invención puede comprender al menos un componente activo adicional seleccionado del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: otras cepas bacterianas viables y/o paraprobióticos y/o postbióticos y/o cepas bacterianas lisadas y/o tinalizadas y/o inactivadas, enzimas, sustancias con acción antiácida directa o indirecta, sustancias prebióticas, sustancias probióticas que pertenecen a las familias de levaduras y bacterias, sustancias inmunoestimulantes, sustancias antidiarreicas, nutrientes, vitaminas de los grupos B, C, D, E, sales orgánicas y/o inorgánicas de magnesio, de selenio, de cinc, melatonina, valeriana, granadilla, bálsamo de limón, espino, manzanilla, lúpulos, antioxidantes, agentes antirradicales.

20 La composición de la invención puede estar en forma sólida, tal como comprimido, comprimido masticable, comprimido que se disuelve en la boca o soluble en la boca, cápsula, pastilla para chupar, gránulos, copos o polvo (gránulos o polvo para disolverse en un líquido o gránulos o polvo solubles en la boca, por ejemplo, barra soluble en la boca), en forma semisólida, tal como gel blando, crema o en forma líquida, tal como disolución, suspensión, dispersión, emulsión o jarabe.

25 La composición de la invención puede formularse para uso (o administración) oral (o gastroentérico), sublingual (o bucal), transmucoso, transdérmico y/o tópico, tal como rectal, cutáneo, vaginal; se formula de forma ventajosa para uso oral.

30 La composición de la invención, que comprende o, alternativamente, que consiste en una de dichas mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)), comprende además opcionalmente dicho al menos un aditivo y/o excipiente de calidad alimentaria o farmacéutica, es decir, una sustancia desprovista de actividad terapéutica adecuada para uso farmacéutico o alimentario. En el contexto de la presente invención, los aditivos y/o excipientes aceptables para uso farmacéutico o alimentario comprenden todas las sustancias auxiliares conocidas por el experto en la técnica para la preparación de composiciones en forma sólida, semisólida o líquida, tales como, por ejemplo, diluyentes, disolventes (incluyendo agua, glicerina, alcohol etílico), solubilizantes, acidulantes, espesantes, edulcorantes, potenciadores del sabor, agentes colorantes, lubricantes, tensioactivos, conservantes, tampones estabilizantes del pH y mezclas de los mismos.

35 La composición de la invención, que comprende o, alternativamente, que consiste en una de dichas mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)), puede ser una composición farmacéutica (o *productos bioterapéuticos vivos*), una composición de dispositivo médico, un suplemento dietético, un alimento o alimento novedoso, o producto probiótico, una composición cosmética, una composición para alimentos para fines médicos especiales (FSMP).

40 En el contexto de la presente invención, la expresión “dispositivo médico” se usa con el significado de acuerdo con el decreto legislativo italiano n° 46 con fecha del 24 de febrero de 1997 o de acuerdo con el nuevo Reglamento sobre Dispositivos Médicos (UE) 2017/745 (MDR).

45 Forman un objeto adicional de la presente invención dichas mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) o dichas composiciones de la invención que comprenden una de dichas mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) para su uso como medicamento.

50 Dichas mezclas (M) o dichas composiciones de la invención también pueden ser para su uso como medicamento como adyuvantes de enfoques terapéuticos adicionales, preferiblemente del tipo farmacológico o dietético.

55 En una realización, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+ M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) o las composiciones de la invención son para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos o síntomas gastrointestinales en un sujeto que lo necesita, preferiblemente de trastornos gastrointestinales funcionales tales como el síndrome del intestino irritable

(IBS), dispepsia, pirosis, trastornos del esófago, del estómago y del duodeno, hiperproliferación bacteriana del intestino delgado (SIBO), trastornos con afecciones subinflamatorias, preferiblemente en donde dichas afecciones subinflamatorias están en una persona anciana o en un sujeto con enfermedad diverticular.

5 En una realización preferida, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+ M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) o las composiciones de la invención son para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de trastornos o síntomas del síndrome del intestino irritable (IBS), IBS con estreñimiento, diarrea, estreñimiento y diarrea alternantes y no clasificado. Ejemplos específicos de trastornos o síntomas del síndrome del intestino irritable (IBS) que pueden tratarse por las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la invención o las composiciones de la invención son: dolor abdominal intermitente, en forma de calambres, con intensidad y localización variables; flatulencias; timpanitis; sensación de hinchazón.

15 En una realización preferida de la invención, la mezcla (III) +M.4+ (II.i) o la composición que comprende la mezcla (III) +M.4+ (II.i), en donde dicha mezcla (III) +M.4+ (II.i) comprende o, alternativamente, consiste en cepas bacterianas (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de trastornos o síntomas del síndrome del intestino irritable (IBS), IBS con estreñimiento, diarrea, estreñimiento y diarrea alternantes y no clasificado.

20 En una realización alternativa de la invención, la mezcla (III) +M.4+ (II.ii) o la composición que comprende la mezcla (III) +M.4+ (II.ii), en donde dicha mezcla (III) +M.4+ (II.ii) comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BIIBS01 (DSM 33233) y (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) y (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ (DSM 26760), es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de trastornos o síntomas del síndrome del intestino irritable (IBS), IBS con estreñimiento, diarrea, estreñimiento y diarrea alternantes y no clasificado.

30 En una realización, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+ M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) o las composiciones de la invención son para su uso en el tratamiento de enfermedades, trastornos o síntomas gastrointestinales inflamatorios en un sujeto que lo necesita, tal como *Helicobacter pylori*, úlceras pépticas o gástricas, úlcera duodenal, enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, colitis microscópica, enfermedad diverticular y diverticulitis; preferiblemente enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, enfermedad diverticular o diverticulitis.

40 En una realización, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+ M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) o las composiciones de la invención son para su uso como agentes inmunomoduladores (que pueden modular el sistema inmunitario) y/o inmunoestimulantes del sujeto al que se administran. Por lo tanto, la cepa bacteriana, o un derivado de la misma, y las composiciones de la presente invención tienen una aplicación válida para el tratamiento preventivo o curativo de enfermedades relacionadas con alteraciones del sistema inmunitario, en particular enfermedades autoinmunes y alergias, enfermedades de inmunodeficiencia, enfermedades que afectan a la piel, tales como acné, dermatitis atópica.

45 Ventajosamente, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) y las composiciones de la presente invención pueden modular positivamente la ruta inflamatoria y, por lo tanto, la razón entre citocinas inflamatorias y citocinas antiinflamatorias. En particular, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la presente invención y las composiciones de la presente invención pueden reducir la producción de citocinas proinflamatorias, preferiblemente IL-6, IL-15, IL-12 y TNF- α , y/o aumentar la producción de citocinas antiinflamatorias, preferiblemente IL-10.

50 Por lo tanto, en una realización de la presente invención, las cepas bacterianas de la invención, las mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) y las composiciones de la invención son para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades o síntomas o trastornos provocados por, o relacionados con/accompañados por, un aumento en las citocinas proinflamatorias y/o una disminución de las citocinas antiinflamatorias, preferiblemente enfermedades que afectan: al sistema locomotor (sistema muscular y esquelético), al sistema digestivo, al sistema urogenital (sistema urinario y sistema genital), al sistema respiratorio, al sistema integumentario, al sistema inmunitario y al sistema circulatorio.

60 En una realización, las cepas bacterianas de la invención, dichas mezclas (M) de la invención (preferiblemente (III)+M.4 o (III)+M.4+ (II.i) o (III)+M.4+ (II.ii)) o dichas composiciones de la invención son para su uso en un método para el tratamiento preventivo o curativo de enfermedades inflamatorias musculoesqueléticas, reumatológicas, articulares inflamatorias y/o inflamatorias postquirúrgicas, preferiblemente para su uso en métodos para el tratamiento de la osteoartritis, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante, en particular osteoartritis de la rodilla y osteoartritis de las articulaciones en general.

65

5 Forma un objeto de la presente invención un método para el tratamiento preventivo o curativo de enfermedades, trastornos o síntomas gastrointestinales, en particular trastornos gastrointestinales funcionales o inflamatorios, preferiblemente IBS (IBS con estreñimiento, diarrea, estreñimiento y diarrea alternantes, no clasificado) o IBD, que proporciona la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una de las mezclas (M) de la invención o de las composiciones de la invención que comprenden una de dichas mezclas (M) de la invención a un sujeto que lo necesita. La referencia al método de tratamiento en la presente memoria debe interpretarse como las mezclas de la invención para su uso en este método.

10 Por motivos de claridad, para lograr el objeto de la presente invención, los componentes (o componentes activos) de la mezcla (M) de la invención, tales como las cepas bacterianas en la presente invención, pueden administrarse por separado (preferiblemente dentro de un intervalo de tiempo que oscila entre 30 minutos y 60 minutos) y en cualquier orden pero, preferiblemente, las cepas bacterianas se administran a un sujeto simultáneamente, incluso más preferiblemente en una sola composición para obtener un efecto más rápido y facilidad de administración. Cuando los componentes (o componentes activos) de la mezcla (M) de la invención, tales como las cepas bacterianas, se administran en una sola composición, dicha composición individual corresponde a la composición de la presente invención.

20 En el contexto de la presente invención, la expresión “sujetos” se usa para indicar sujetos humanos o sujetos animales (por ejemplo, mascotas, tales como perros o gatos u otros mamíferos). Preferiblemente, las composiciones de la invención son para su uso en métodos de tratamiento para sujetos humanos.

25 A menos que se especifique lo contrario, la expresión composición o mezcla u otra que comprende un componente en una cantidad “comprendida en un intervalo de desde x hasta y” se usa para indicar que dicho componente puede estar presente en la composición o mezcla o extracto u otro en cualquier cantidad presente en dicho intervalo, aunque no se especifique, incluyéndose los extremos del intervalo.

30 La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de composición, mezcla y/o cepa bacteriana que provoca la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, mamífero o ser humano que se busca y define por un individuo, investigador, veterinario, médico u otro profesional médico o sanitario.

35 En el contexto de la presente invención, el término “nuevo alimento” se usa en su significado de acuerdo con el Reglamento de la UE 2015/2283 del 25/11/2015.

A continuación en el presente documento se notifican realizaciones (FRn).

FR1. Una composición que comprende una mezcla M que comprende o, alternativamente, que consiste en:

40 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbfIBS01) y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 32708 el 4 de diciembre de 2017 por Sofar S.p.A, o un derivado de la misma; y

- al menos una cepa bacteriana, o un derivado de la misma, seleccionada del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en:

45 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBS01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33231 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

50 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBS02 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33232 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

55 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33233 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

60 - una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33234 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,

y mezclas de las mismas;

y, opcionalmente, dicha composición comprende al menos un aditivo y/o excipiente de calidad alimentaria o farmacéutica.

FR2. Una composición según FR1, en donde dicha mezcla M comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas:

- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbflBS01) DSM 32708 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 DSM 33233 o un derivado de la misma, y
- *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o un derivado de la misma.

FR3. Una composición según FR1 o FR2, en donde dicha mezcla M comprende además al menos una cepa bacteriana adicional seleccionada del grupo B que comprende o, alternativamente, que consiste en:

- una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus casei* DG® y depositada en la Colección Nacional de Cultivos de Microorganismos del Instituto Pasteur en París con el número de registro CNCM I-1572 el 5 de mayo de 1995 por SOFAR S.p.A., y
- una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de registro DSM 26760 el 15 de mayo de 2017 por SOFAR S.p.A., o derivados de las mismas.

FR4. Una composición según FR3, en donde dicha mezcla M comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas:

- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbflBS01) DSM 32708 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 DSM 33233 o un derivado de la misma,
- *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o un derivado de la misma, y
- *Lactobacillus casei* DG® CNCM I-1572 o un derivado de la misma.

FR5. Una composición según FR3, en donde dicha mezcla M comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas:

- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbflBS01) DSM 32708 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232 o un derivado de la misma,
- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 DSM 33233 o un derivado de la misma,
- *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o un derivado de la misma, y
- *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ DSM 26760 o un derivado de la misma.

FR6. La composición según una cualquiera de FR 1 a 5, en donde dicha composición está formulada para uso oral, sublingual o bucal, transmucoso, tópico, rectal, cutáneo o vaginal; preferiblemente está formulada para uso oral.

FR7. La composición según una cualquiera de FR 1 a 6, en donde dicha composición es para su uso como medicamento.

FR8. La composición según una cualquiera de FR 1 a 6, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales funcionales.

FR9. La composición según FR8, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales funcionales seleccionados del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: síndrome del intestino irritable (IBS), dispepsia, pirosis,

trastornos del esófago, del estómago y del duodeno, hiperproliferación bacteriana del intestino delgado (SIBO), trastornos gastrointestinales con afecciones subinflamatorias.

5 FR10. La composición según FR9, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo o curativo del síndrome del intestino irritable (IBS) con estreñimiento o síndrome del intestino irritable (IBS) con diarrea o síndrome del intestino irritable (IBS) con estreñimiento y diarrea alternantes o síndrome del intestino irritable (IBS) no clasificado.

10 FR11. La composición según una cualquiera de FR 1 a 6, para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales inflamatorios.

15 FR12. La composición según FR11, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo o curativo de trastornos gastrointestinales inflamatorios seleccionados del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, diverticulitis, *Helicobacter pylori*, úlcera péptica o gástrica y úlcera duodenal; preferiblemente seleccionados de enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, enfermedad diverticular y diverticulitis.

20 Parte experimental

Evaluación de la eficacia de la combinación de 6 cepas bacterianas viables en el tratamiento de pacientes que padecen síndrome del intestino irritable (IBS); ensayo multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos, controlado con placebo.

25 1. Objetivos del ensayo

Objetivo primario: evaluar el efecto de un suplemento combinado de 6 cepas probióticas según la invención (composición 1) sobre la microbiota intestinal de pacientes que padecen IBS.

30 -- Objetivos secundarios

1. Evaluar el efecto de la composición 1 sobre los síntomas del IBS;
2. Evaluar el efecto de la composición 1 sobre el dolor/molestias abdominales;
- 35 3. Evaluar el efecto de la composición 1 sobre los hábitos intestinales diarios del paciente que padece IBS;
4. Evaluar el efecto de la composición 1 sobre la permeabilidad intestinal;
- 40 5. Evaluar la recuperación de cepas de la composición 1 en muestras de heces;
6. Evaluar la satisfacción general del tratamiento;
- 45 7. Evaluar el cambio en la calidad de vida de los pacientes;
8. Evaluar la ingesta de medicación de rescate.

Dicho de otro modo, el ensayo tiene como objetivo evaluar:

- 50 • el efecto de la combinación de 6 cepas bacterianas viables (composición 1, según la presente invención) sobre síntomas abdominales en pacientes sin estreñimiento que padecen síndrome del intestino irritable (IBS);
- el alivio de los síntomas de IBS;
- 55 • la consistencia diaria de las heces;
- la satisfacción general con el tratamiento;
- la calidad de vida;
- 60 • el deterioro psicológico;
- la ingesta de medicación de rescate;
- 65 • la composición de la microbiota intestinal y los productos metabólicos (metabolómica) y, por lo tanto, modificaciones a nivel del ecosistema de microbio intestinal;

- la permeabilidad intestinal;
- la recuperación de cepas en heces;
- modificaciones de la ruta inflamatoria.

La posibilidad de analizar la microbiota en sangre se considerará como un objetivo exploratorio para los fines del ensayo.

2. Diseño experimental

Ensayo multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos, controlado con placebo.

El periodo de inclusión estimado será de aproximadamente 12 meses.

Los pacientes se incluirán después de firmar el consentimiento informado antes de cualquier otro procedimiento del ensayo y después de evaluar los criterios de inclusión/exclusión.

Se planificarán para cada sujeto 6 visitas de ensayo, cada una de las cuales se llevará a cabo de acuerdo con los requisitos informados notificados en el protocolo (véase la figura 1).

Las visitas de ensayo se realizarán de la siguiente manera: en la visita 0 (selección), en la visita 1 (nivel inicial/inicio del 1er periodo de tratamiento), en la visita 2 (final del 1er periodo de tratamiento/inicio del lavado), en la visita 3 (final del lavado/comienzo del 2º periodo de tratamiento), en la visita 4 (final del 2º periodo de tratamiento) y en la visita 5 (final del ensayo).

Los sujetos se incluirán en la visita de selección y entrarán en un periodo de selección de 1 semana.

Por lo tanto, si son elegibles, se someterán a un procedimiento de aleatorización en la visita de nivel inicial y se asignarán aleatoriamente a un grupo de tratamiento (composición 1/placebo o placebo/composición 1). A cada sujeto se le proporcionará el producto activo (composición 1) o el placebo durante 4 semanas; después de un periodo de lavado de 4 semanas, cada sujeto entrará en el segundo periodo de tratamiento durante otras 4 semanas. Después de la visita 4 (final del tratamiento), los pacientes entrarán en una fase de seguimiento de cuatro semanas hasta la visita de final del ensayo (visita 5).

Cada sujeto tomará 1 sobre del producto activo (composición 1) o placebo una vez al día durante 4 semanas. Por lo tanto, se pueden identificar dos secuencias de tratamiento:

- Secuencia 1 (E-P): pacientes tratados con la composición 1 (E) en el primer periodo de tratamiento y placebo (P) en el segundo.
- Secuencia 2 (P-E): pacientes tratados con placebo (P) en el primer periodo de tratamiento y la composición 1 (E) en el segundo.

3. Pacientes

Pacientes masculinos o femeninos ≥ 18 años y ≤ 65 años de edad, con diagnóstico de IBS sin estreñimiento (véase a continuación) de acuerdo con los criterios de Roma IV.

El criterio de diagnóstico para IBS, cumplido durante los 3 meses anteriores con inicio de los síntomas al menos 6 meses antes del diagnóstico, es dolor abdominal recurrente al menos 1 día por semana, asociado con 2 o más de los siguientes:

- 1) relacionado con defecación;
- 2) asociado con el cambio en la frecuencia de las heces;
- 3) asociado con el cambio en la forma (aspecto) de las heces;

Los pacientes con IBS sin estreñimiento incluyen:

- 1) IBS con diarrea predominante (IBS-D): más de un cuarto (25 %) de los movimientos intestinales en forma de heces (Bristol) de tipo 1 o 2;

2) IBS con hábitos intestinales mixtos (IBS-M): más de un cuarto (25 %) de los movimientos intestinales en forma de heces (Bristol) de tipo 1 o 2 y más de un cuarto (25 %) de los movimientos intestinales en forma de heces (Bristol) de tipo 6 o 7.

5 4. Criterios de inclusión

- ≥ 18 y ≤ 65 años de edad.
- Diagnóstico positivo de IBS sin estreñimiento (IBS-D e IBS-M, tanto hombres como mujeres) según los
10 criterios de Roma IV.
- Colonoscopia negativa realizada dentro de los 5 años previos a la visita de selección si el paciente tiene al menos 50 años de edad, o si el paciente tiene una de estas señales de alarma:
 - 15 1) tiene una pérdida de peso registrada significativa en los últimos 6 meses; o
 - 2) muestra síntomas por la noche; o
 - 20 3) tiene antecedentes familiares del cáncer de colon; o
 - 4) tiene sangre mezclada con heces (excluyendo sangre de hemorroides).
- Pruebas o consultas relevantes adicionales, cuando sea apropiado, negativas.
- 25 - Capacidad para cumplir con el protocolo de ensayo.

5. Criterios de exclusión

- Pacientes que padecen IBS-C o IBS-U según los criterios de Roma IV.
30
- Presencia de cualquier enfermedad orgánica, sistémica o metabólica relevante (antecedentes particularmente significativos de enfermedades cardíacas, renales, neurológicas, psiquiátricas, oncológicas, endocrinológicas, metabólicas o hepáticas) o valores de laboratorio anómalos detectados durante el periodo de preinclusión, considerados clínicamente significativos basándose en valores predefinidos (por ejemplo, niveles de
35 función renal o hepática 2 veces mayores que los valores de referencia más altos).
- Enfermedades intestinales orgánicas establecidas, incluyendo alergias alimentarias o enfermedades inflamatorias intestinales (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad diverticular, colitis infecciosa, colitis isquémica, colitis microscópica).
40
- Cirugía abdominal principal anterior.
- Neoplasia maligna activa de cualquier tipo, o antecedentes de malignidad (pacientes con antecedentes clínicos de otras neoplasias que se han extirpado quirúrgicamente y que no tienen evidencia de recidiva durante al
45 menos cinco años antes de la inclusión en el ensayo son aceptables).
- Intolerancia alimentaria sin tratar como se establece.
- Sospecha de intolerancia a la lactosa, como se define por la evaluación anamnésica o, cuando sea apropiado,
50 la prueba de respiración de lactosa.
- Uso de probióticos o terapia con antibióticos tópicos/sistémicos durante el último mes.
- Uso frecuente o sistemático de laxantes de contacto.
55
- Mujeres embarazadas o mujeres de edad reproductiva en ausencia de métodos anticonceptivos eficaces.
- Incapacidad para cumplir con el protocolo.
- 60 - Tratamiento con cualquier fármaco experimental dentro del plazo de los 30 días anteriores.
- Historial reciente o sospecha de abuso de alcohol o drogadicción.
- Presencia de marcadores rojos o blancos según los criterios de Roma IV.
65
- *Cuestionario psicosocial de alarma para trastornos gastrointestinales funcionales.*

6. Tratamiento

• La composición 1 de acuerdo con la presente invención comprende: Lactobacillus casei DG®, Lactobacillus plantarum LpIBS01, Bifidobacterium breve BbIBS01, Bifidobacterium breve BbIBS02, Bifidobacterium animalis sub. lactis BbIBS01, Bifidobacterium bifidum BbfIBS01= MIMBb23sg), 1 dosis (cápsula o sobre) al día durante 4 semanas (aproximadamente 30×10^9 UFC/dosis, aproximadamente 5×10^9 UFC para cada cepa bacteriana).

• Composición 2 (placebo), indistinguible de la composición 1, una cápsula/sobre al día durante 4 semanas.

7. Aleatorización

Los pacientes que pueden incluirse entrarán en una fase de preinclusión de 1 semana y luego en la visita 1 se asignarán aleatoriamente con una razón de 1:1 al tratamiento con la composición 1 (composición según la invención) o al producto equivalente libre de bacterias (placebo), similar en cuanto a color y sabor, una vez al día durante 4 semanas. El diseño de ensayos clínicos con las fases de preinclusión, tratamiento, cruce, tratamiento y seguimiento se notifica en la figura 1.

8. Criterios de valoración

Criterio de valoración primario

Evaluación de los cambios en la microbiota fecal con respecto al nivel inicial en cuanto a índices de diversidad microbiana (diversidad α y β), abundancia taxonómica relativa y metabolitos.

Criterios de valoración secundarios

1. Alivio de los síntomas de IBS, evaluado por medio de la puntuación de escala de intensidad de síntomas de IBS (IBS-SSS), evaluada en V1, V2, V3, V4 y V5;

2. Evaluación del dolor/molestia abdominal diario evaluado por medio de la escala de clasificación numérica convencional de 11 puntos (NRS) (desde 0 = ninguno hasta 10 = peor dolor posible);

3. Evaluación de la frecuencia y consistencia de las heces diarias evaluadas mediante la escala de forma de heces de Bristol (BSFS);

4. Cambio de la permeabilidad intestinal (muestra de sangre), con evaluación de los niveles séricos de zonulina, citrulina y PV-1 mediante la prueba de ELISA;

5. Detección de las cepas presentes en la composición 1 en muestras de heces mediante el uso de cebadores específicos de qPCR;

6. Satisfacción general para el tratamiento evaluado por medio de escala de VAS;

7. Evaluación de la calidad de vida evaluada por medio del cuestionario de salud validado *formulario corto de 12 puntos* (SF-12) en una escala de 0 a 100;

8. Cambio de la ingesta de medicamentos de rescate.

Criterios de valoración de la seguridad

9. Recogida de acontecimientos adversos de pacientes con IBS y acontecimientos adversos graves durante el ensayo;

10. Medicamentos concomitantes durante el ensayo.

Criterio de valoración exploratorio

Evaluación de los cambios en la microbiota en sangre con respecto al nivel inicial en cuanto a índices de diversidad microbiana (diversidad α y β), abundancia taxonómica relativa.

9. Población para análisis y consideraciones estadísticas

- Conjunto de análisis completo (FAS): consiste en todos los pacientes aleatorizados.

- Conjunto de seguridad: consiste en todos los pacientes aleatorizados que reciben al menos una dosis de tratamiento de ensayo y tienen al menos una evaluación de seguridad posterior al nivel inicial.

- Conjunto de protocolo (PP): consiste en todos los pacientes aleatorizados que completan el ensayo sin ninguna violación significativa del protocolo.

5 - Conjunto de intención de tratar (ITT): consiste en todos los pacientes aleatorizados que reciben al menos una dosis de tratamiento de ensayo y tienen al menos una evaluación de eficacia posterior al nivel inicial.

El criterio de valoración primario del ensayo se comparará de forma descriptiva entre las dos ramas de ensayo (composición 1 y placebo). Se llevará a cabo un análisis inferencial apropiado únicamente para fines exploratorios.

10 En general, todas las variables se analizarán de manera descriptiva con respecto a la rama de tratamiento y visita (media, mediana, desviación estándar, mínimo y máximo para variables continuas después del control de la normalidad de distribución por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, distribución de frecuencia para variables categóricas). Todos los análisis se detallarán en el plan de análisis estadístico (SAP) que se finalizará en la versión 1.0 antes del bloqueo de la base de datos (DBL). En detalle, los datos de seguridad y tolerabilidad incluirán (al menos) exámenes físicos, signos vitales, datos de laboratorio y acontecimientos adversos.

15

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende
- 5 una mezcla M que comprende o, alternativamente, que consiste en:
- una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 32708 el 4 de diciembre de 2017 por Sofar S.p.A.; y
 - 10 - al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo A que comprende o, alternativamente, que consiste en:
 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBS01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33231 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,
 - 15 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium breve* BbIBS02 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33232 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,
 - 20 - una cepa bacteriana identificada como *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33233 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,
 - 25 - una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de depósito DSM 33234 el 31 de julio de 2019 por Sofar S.p.A.,
 - 30 y mezclas de las mismas;
- y, opcionalmente, dicha composición comprende al menos un aditivo y/o excipiente de calidad alimentaria o farmacéutica.
- 35 2. La composición según la reivindicación 1, en donde dicha mezcla M comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas:
- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbflBS01) DSM 32708,
 - 40 - *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231,
 - *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232,
 - *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 DSM 33233, y
 - 45 - *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234.
3. La composición según la reivindicación 1 o 2, en donde dicha mezcla M comprende además al menos una cepa bacteriana adicional seleccionada del grupo B que comprende o, alternativamente, que consiste en:
- 50
- una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus casei* DG® y depositada en la Colección Nacional de Cultivos de Microorganismos del Instituto Pasteur en París con el número de registro CNCM I-1572 el 5 de mayo de 1995 por SOFAR S.p.A., y
 - 55 - una cepa bacteriana identificada como *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ y depositada en Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con el número de registro DSM 26760 el 15 de mayo de 2017 por SOFAR S.p.A.
- 60 4. La composición según la reivindicación 3, en donde dicha mezcla M comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas:
- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbflBS01) DSM 32708,
 - *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231,
 - 65 - *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232,

- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 DSM 33233,
 - *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234, y
 - *Lactobacillus casei* DG® CNCM 1-1572.
- 5.
5. La composición según la reivindicación 3, en donde dicha mezcla M comprende o, alternativamente, consiste en las cepas bacterianas:
- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbfIBS01) DSM 32708,
 - *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231,
 - *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232,
 - *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BIIBS01 DSM 33233,
 - *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234, y
 - *Lactobacillus paracasei* LPC-S01™ DSM 26760.
- 6.
6. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha composición está formulada para uso oral, sublingual o bucal, transmucoso, tópico rectal, tópico cutáneo o tópico vaginal; preferiblemente dicha composición está formulada para uso oral.
- 7.
7. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como medicamento.
- 8.
8. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales funcionales.
- 9.
9. La composición según la reivindicación 8, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales funcionales seleccionados del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: síndrome del intestino irritable (IBS), dispepsia, pirosis, trastornos del esófago, del estómago y del duodeno, hiperproliferación bacteriana del intestino delgado (SIBO), trastornos gastrointestinales con afecciones subinflamatorias.
- 10.
10. La composición según la reivindicación 9, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo o curativo del síndrome del intestino irritable (IBS) con estreñimiento o síndrome del intestino irritable (IBS) con diarrea o síndrome del intestino irritable (IBS) con estreñimiento y diarrea alternantes o síndrome del intestino irritable no clasificado (IBS).
- 11.
11. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en un método para el tratamiento preventivo y/o curativo de enfermedades, trastornos y/o síntomas gastrointestinales inflamatorios.
- 12.
12. La composición según la reivindicación 11, en donde dicha composición es para su uso en un método para el tratamiento preventivo o curativo de trastornos gastrointestinales inflamatorios seleccionados del grupo que comprende o, alternativamente, que consiste en: enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, enfermedad diverticular, diverticulitis, *Helicobacter pylori*, úlcera péptica o gástrica y úlcera duodenal; preferiblemente seleccionados de enfermedades inflamatorias intestinales crónicas (IBD), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, enfermedad diverticular y diverticulitis.

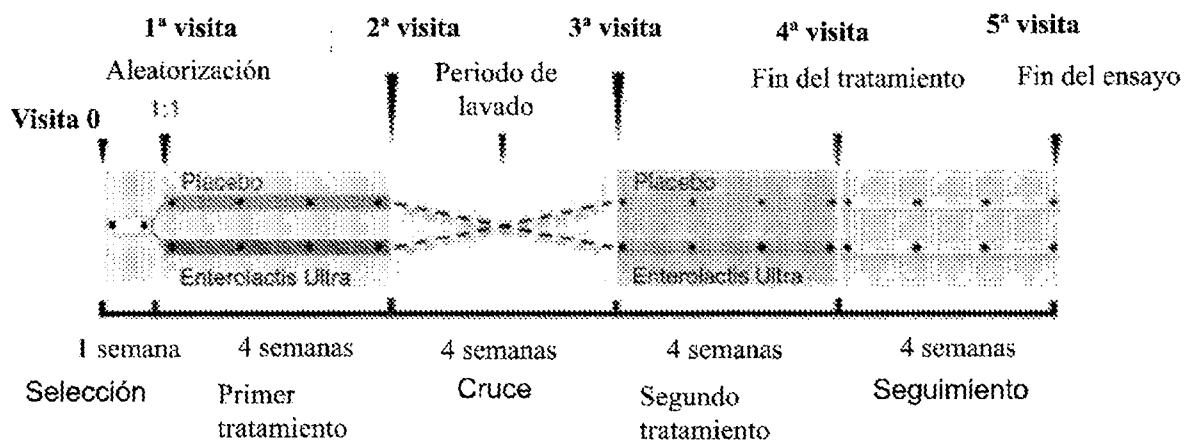


Figura 1