



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102019000016811
Data Deposito	20/09/2019
Data Pubblicazione	20/03/2021

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K	35	745

Titolo

Ceppi batterici, loro composizioni e loro uso per il trattamento di disturbi gastrointestinali
--

804 582

HOFFMANN EITLE S.R.L.

Milano

DESCRIZIONE dell'invenzione avente per titolo:

"CEPPI BATTERICI, LORO COMPOSIZIONI E LORO USO PER IL TRATTAMENTO DI DISTURBI GASTROINTESTINALI"

A nome: SOFAR S.P.A.

Di nazionalità: Italiana

Con domicilio in: Via Firenze, 40, 20060 Trezzano
Rosa

Inventori designati: BIFFI Andrea, FIORE Walter

La presente invenzione si riferisce a nuovi ceppi di batteri, quali: un ceppo appartenente alla specie *Bifidobacterium breve* identificato come *Bifidobacterium breve* BbIBS01 (DSM 33231), un ceppo appartenente alla specie *Bifidobacterium breve* identificato come *Bifidobacterium breve* BbIBS02 (DSM 33232), un ceppo appartenente alla specie *Bifidobacterium animalis* identificato come *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e un ceppo appartenente alla specie *Lactobacillus plantarum* identificato come *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 (DSM 33234).

Inoltre, la presente invenzione si riferisce a composizioni che comprendono una miscela che comprende o, alternativamente, consiste di: un ceppo di batteri identificato come *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg o BbfIBS01 (DSM 32708), almeno uno o più ceppi di batteri selezionati nel gruppo che comprende o, alternativamente, consiste di detti *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), *B. animalis* subsp. *lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234), e, opzionalmente, almeno un ulteriore ceppo di batteri scelto nel gruppo comprendente o, alternativamente, consistente di: *L. casei* DG[®] (CNCM I-1572) e *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234).

Infine, la presente invenzione si riferisce a detti ceppi di batteri o loro miscele o loro composizioni per uso in un metodo di trattamento di patologie, disturbi o sintomi gastrointestinali, in particolare di disturbi gastrointestinali funzionali, quale, ad esempio, la sindrome dell'intestino irritabile (IBS).

La sindrome dell'intestino irritabile (in breve, SII o IBS dall'inglese *irritable bowel syndrome*) appartiene al gruppo dei disordini funzionali gastrointestinali (DFGI o FGID dall'inglese), una categoria diagnostica definibile in base alla sola presentazione sintomatologica e caratterizzata dall'assenza di un evidente substrato patogenetico.

I disturbi funzionali gastrointestinali (FGID), anche denominati disordini dell'asse intestino-cervello, sono un gruppo di disordini classificati in base ai sintomi

gastrointestinali correlati ad una qualsiasi combinazione di: disturbi della motilità intestinale, ipersensibilità viscerale, alterata funzione mucosale e immune, alterazione del microbiota intestinale, alterazione della percezione degli stimoli a livello del sistema nervoso centrale.

La IBS è uno dei più comuni disturbi gastrointestinali, che colpisce circa il 15-20% della popolazione, in cui il disagio o il dolore addominale è associato a modificazioni dell'habitat intestinale. Le evidenti alterazioni del lume o della mucosa gastrointestinale a livello tissutale, cellulare o molecolare, sebbene segnalate in letteratura, sono eventi variabili e non sono state irrefutabilmente identificate nella IBS (Gazouli et al., 2016). Sembrano essere invece coinvolte le risposte immunitarie alterate (Sinagra et al., 2016), ma queste non sono in grado di spiegare interamente la sintomatologia. Similmente, un'alterazione del microbiota intestinale (cioè una disbiosi) contribuisce alla fisiopatologia, ma nessuno specifico patogeno o patobionte è stato ancora correlato con certezza alla IBS (Sinagra et al., 2016).

La sindrome dell'intestino irritabile (IBS) è un disordine della funzione intestinale caratterizzato da dolore addominale in relazione a cambiamenti dell'alvo (o in senso stitico o in senso diarroico o alternato) e con segni di alterata defecazione e meteorismo. IBS non è da confondere con la colite spastica, in quanto la colite spastica è una patologia organica che ha come

causa l'inflammatione che provoca spasmi e dolori addominali.

In base a criteri di Roma IV, l'IBS è caratterizzato da dolore addominale ricorrente, in media, almeno 1 giorno alla settimana negli ultimi 3 mesi, associato a due o più dei seguenti criteri: relativo alla defecazione, associato a un cambiamento nella frequenza delle feci, associato a un cambiamento di forma (aspetto) delle feci. I criteri vanno soddisfatti per gli ultimi 3 mesi, con insorgenza dei sintomi almeno 6 mesi prima della diagnosi.

A seconda delle caratteristiche delle feci vengono distinti quattro gruppi in cui è possibile stratificare i pazienti: IBS con stipsi prevalente (alvo stitico), IBS con diarrea prevalente (alvo diarroico), IBS con alvo alternato, IBS inclassificata.

Attualmente, le terapie disponibili per il trattamento della IBS sono finalizzate alla risoluzione degli eventi patogenetici alla base della IBS. Nei soggetti con alvo diarroico, la frequenza delle scariche può essere diminuita riducendo l'assunzione alimentare di carboidrati a catena corta scarsamente assorbiti nell'intestino tenue (Fodmap) come fruttosio, sorbitolo e mannitolo. A questi accorgimenti può essere utile associare preparati a base di caolino come la diosmectite. Nei soggetti con alvo prevalentemente stitico e con presenza di meteorismo, sono disponibili preparati a basse concentrazioni di polietilenglicole/sali minerali, da assumere

quotidianamente. Inoltre, in tali soggetti, che presentano costipazione moderata-severa, è disponibile anche l'impiego della linaclotide, un agonista dei recettori della guanilato ciclasi C. L'uso di ansiolitici (come le benzodiazepine) nei brevi periodi in cui il paziente riconosce il proprio stato d'ansia, è utile nel ridurre la partecipazione psicologica al dolore, con riduzione dello stesso. Analogamente, l'utilizzo di antidepressivi come i triciclici e gli SSRI (inibitori della ricaptazione della serotonina), oltre a modulare direttamente il dolore senza alterare la funzione psichica, è in grado di migliorare la qualità del sonno e di diminuire la frequenza degli attacchi. Altre terapie sono invece rivolte al controllo del dolore; in questo senso, sono particolarmente utili alcuni spasmolitici. Farmaci anticolinergici-antispastici (antimuscarinici), quali ad esempio atropina, scopolamina, mebeverina, sono impiegati per ridurre la secrezione gastrica e la motilità intestinale. Analogamente alla terapia della malattia diverticolare, la sindrome meteorica può essere ridotta utilizzando antibiotici scarsamente assorbibili, quale ad esempio rifaximina, e probiotici che regolarizzino la flora intestinale.

Tuttavia, i suddetti trattamenti spesso non permettono una completa e duratura risoluzione della malattia e dei suoi sintomi.

Resta quindi alta la necessità di fornire una soluzione efficace per il trattamento di disturbi

gastrointestinali, in particolare di disturbi gastrointestinali funzionali, più in particolare della sindrome dell'intestino irritabile (IBS), sia alvo stitico, sia alvo diarroico, sia alvo alternato, sia IBS inclassificata.

La Richiedente, a seguito di un'estensiva attività di ricerca e sviluppo, affronta e risolve la presente necessità fornendo: nuovi ceppi batterici isolati, quali, (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) (in breve, nuovi ceppi batterici (I.i-I.iv) dell'invenzione o (I.i-I.iv)); miscele (M) comprendenti un ceppo di batteri *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg o BbfIBS01 (DSM 32708), almeno uno o più ceppi di batteri (I.i-I.iv) e, opzionalmente, almeno un ulteriore ceppo di batteri scelto nel gruppo comprendente o, alternativamente, consistente di: *L. casei* DG® (CNCM I-1572) e *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) (in breve, miscele (M) dell'invenzione); composizioni comprendenti dette miscele (M) (in breve, composizioni dell'invenzione); l'uso di detti ceppi, miscele o composizioni per il trattamento di disturbi gastrointestinali, preferibilmente disturbi gastrointestinali funzionali o infiammatori, più preferibilmente della sindrome dell'intestino irritabile (IBS), sia IBS alvo diarroico sia IBS alvo stitico sia IBS alvo alternato sia IBS inclassificata, secondo quanto riportato nella presente descrizione e nelle

rivendicazioni.

Nello specifico, detti nuovi ceppi batterici dell'invenzione (I.i-I.iv) o i loro derivati, le miscele (M) di ceppi di batteri della presente invenzione e le composizioni comprendenti dette miscele (M) della presente invenzione, sono efficaci nel trattamento di disturbi gastrointestinali, in particolare nei confronti di disturbi gastrointestinali funzionali, quale ad esempio la IBS, in quanto determinano:

- a livello del microbiota intestinale, una modulazione positiva delle popolazioni microbiche presenti, come ad esempio un aumento nella popolazione batterica del genere *Lactobacillus* e, allo stesso tempo, una riduzione significativa della popolazione batterica appartenente al genere *Ruminococcus*, un patobionte normalmente associato all'IBS;
- un aumento della concentrazione intestinale di acidi grassi a catena corta, in particolare acido butirrico e/o acetico;
- una modulazione positiva del livello dei prodotti metabolici batterici (metabolomica), quali ad esempio aminoacidi liberi e amine biogene;
- una modulazione positiva del *pathway* infiammatorio, con, ad esempio, una riduzione delle citochine pro-infiammatorie, quali IL-6 e/o IL-15 o altre;
- un miglioramento nella permeabilità intestinale, valutata ad esempio attraverso i livelli sierici di zonulina, citrullina e PV-1;
- una modulazione positiva a livello del *pathway* serotoninergico.

In aggiunta, detti nuovi ceppi di batteri (I.i-I.iv), le miscele (M) di ceppi di batteri e le composizioni comprendenti dette miscele (M) della presente invenzione influenzano l'espressione di diversi geni coinvolti nelle risposte immunitarie nell'intestino, in particolare nell'ileo, rendendo plausibile la loro attività anti-infiammatoria/regolatoria nell'intestino.

Inoltre, i nuovi ceppi di batteri, le miscele e le composizioni dell'invenzione non presentano effetti collaterali di rilievo e possono essere somministrati a tutti i soggetti, in particolare anche a soggetti pediatrici e donne in gravidanza.

Infine, le miscele o composizioni dell'invenzione sono efficaci, di facile preparazione ed economicamente vantaggiose.

Questi scopi, e altri ancora che risulteranno chiari dalla descrizione dettagliata che segue, sono raggiunti dal ceppo batterico, dalle miscele e dalle composizioni della presente invenzione grazie alle caratteristiche tecniche rivendicate nelle unite rivendicazioni.

DESCRIZIONE DELLE FIGURE

Figura 1: disegno dello studio clinico con le fasi di *run-in*, trattamento e *follow-up*.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Forma oggetto della presente invenzione un ceppo di batteri appartenente alla specie *Bifidobacterium breve* identificato come (I.i) *Bifidobacterium breve* BbIBS01, o un suo derivato, in cui detto ceppo batterico è stato depositato, in accordo con le previsioni del Trattato di Budapest, presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33231 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A. (in breve, BbIBS01 o *B. breve* BbIBS01 DSM 33231 o (I.i)).

Forma oggetto della presente invenzione un ceppo di batteri appartenente alla specie *Bifidobacterium breve* identificato come (I.ii) *Bifidobacterium breve* BbIBS02, o un suo derivato, in cui detto ceppo batterico è stato depositato, in accordo con le previsioni del Trattato di Budapest, presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33232 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A. (in breve, BbIBS02 o *B. breve* BbIBS02 DSM 33232 o (I.ii)).

Forma oggetto della presente invenzione un ceppo di batteri appartenente alla specie *Bifidobacterium animalis* identificato come (I.iii) *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BlIBS01, o un suo derivato, in cui detto ceppo batterico è stato depositato, in accordo con le previsioni del Trattato di Budapest, presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen

GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33233 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A. (in breve, B1BS01 o *B. animalis subsp. lactis* B1BS01 DSM 33233 o (I.iii)).

Forma oggetto della presente invenzione un ceppo di batteri appartenente alla specie *Lactobacillus plantarum* identificato come (I.iv) *Lactobacillus plantarum* Lp1BS01, o un suo derivato, in cui detto ceppo batterico è stato depositato, in accordo con le previsioni del Trattato di Budapest, presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33234 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A. (in breve, Lp1BS01 o *L. plantarum* Lp1BS01 DSM 33234 o (I.iv)).

Preferibilmente, i ceppi di batteri della presente invenzione (i.e. (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv), (II.i), (II.ii), (III)) sono ceppi batterici vitali, quali, ad esempio, ceppi batterici vitali presenti nei prodotti probiotici o nei *Live Biotherapeutic Products* (in breve, LBP, quali prodotti farmaceutici comprendenti ceppi batterici vitali).

Sono definiti "probiotici" i microorganismi (i.e. ceppi di batteri) vivi e vitali che, quando somministrati in quantità adeguata, conferiscono benefici alla salute dell'ospite; il termine "probiotici" fa riferimento a microorganismi presenti negli alimenti o aggiunti ad essi (definizione FAO ed OMS).

Nel contesto della presente invenzione, con il termine "derivato" di un ceppo di batteri della presente invenzione (i.e. (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv), (II.i), (II.ii), (III)) viene inteso il ceppo batterico tindalizzato, oppure inattivato oppure lisati o estratti del ceppo batterico (paraprobiotici) o qualsiasi derivato e/o componente del ceppo batterico, preferibilmente esopolisaccaride, frazione parietale, metaboliti o bioprodotto metabolici generati dal ceppo batterico (postbiotici) e/o qualsiasi altro prodotto di derivazione dal ceppo batterico. Preferibilmente con il termine "derivato" dei ceppi batterici della presente invenzione viene inteso il ceppo batterico tindalizzato oppure inattivato.

Secondo un aspetto della presente invenzione, nelle miscele (M) dell'invenzione o nelle composizioni dell'invenzione, parte dei ceppi di batteri possono essere vitali e parte dei ceppi di batteri possono essere in forma di derivati, come sopra definiti (e.g. tindalizzati).

Forma oggetto della presente invenzione una miscela (M) di ceppi batterici (in breve, miscela (M) dell'invenzione) che comprende o, alternativamente, consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), o un suo derivato, e almeno uno o più ceppi di batteri, o un suo/loro derivato, scelto nel gruppo A comprendente o, alternativamente, consistente di: (I.i) *B. breve* BbIBS01

(DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234).

Un ceppo di batteri identificato come *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (denominato alternativamente dalla Richiedente *Bifidobacterium bifidum* BbfIBS01 o, *Bifidobacterium bifidum* BbfIBLPC-S01) è stato depositato, in accordo con le previsioni del Trattato di Budapest, presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con il numero di deposito DSM 32708 in data 14 novembre 2017 da Sofar S.p.A. (in breve, MIMBb23sg o BbfIBS01 o BbfIBLPC-S01 o *B. bifidum* MIMBb23sg DSM 32708 o (III)). Viene precisato che si tratta sempre e soltanto dello stesso ceppo di batteri, a prescindere dalla denominazione interna MIMBb23sg o BbfIBS01 o BbfIBLPC-S01, utilizzata dalla Richiedente.

Detta miscela (M) dell'invenzione può comprendere, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), un solo ceppo di batteri scelto nel gruppo A comprendente o, alternativamente, consistente di: (I.i), (I.ii), (I.iii) e (I.iv); in breve miscela (III)+M.1.

Detta miscela (M) dell'invenzione può comprendere, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), due ceppi di batteri scelti nel gruppo M.2 consistente di: (I.i) e (I.ii), (I.i) e (I.iii), (I.i) e (I.iv), (I.ii) e (I.iii), (I.ii) e

(I.iv), (I.iii) e (I.iv); in breve miscela (III)+M.2.

Detta miscela (M) dell'invenzione può comprendere, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), tre ceppi di batteri scelti nel gruppo M.3 consistente di: (I.i) e (I.ii) e (I.iii), (I.i) e (I.ii) e (I.iv), (I.i) e (I.iii) e (I.iv), (I.ii) e (I.iii) e (I.iv); in breve miscela (III)+M.3.

Detta miscela (M) dell'invenzione può comprendere, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), quattro ceppi di batteri, quali: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234); in breve miscela (III)+M.4.

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la miscela (M) dell'invenzione, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), o un suo derivato, e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, o un suo/loro derivato, comprende almeno un ulteriore ceppo di batteri scelto nel gruppo B comprendente o, alternativamente, consistente di: un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572) e un ceppo di batteri (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760).

Un ceppo di batteri identificato come *Lactobacillus casei* DG[®] (marchio registrato da SOFAR S.p.A.) è stato depositato da SOFAR S.p.A. presso la Collezione Nazionale di Colture di Microrganismi dell'Istituto

Pasteur di Parigi con il numero di accesso CNCM I-1572 in data 05 maggio 1995 da SOFAR S.p.A. (in breve, DG[®] o *L. casei* DG[®] CNCM I-1572 o (II.i)); inizialmente il ceppo aveva la denominazione di *Lactobacillus casei* DG[®] *sub.casei*; successivamente è stato riclassificato come *Lactobacillus paracasei* DG[®] CNCM I-1572. Viene precisato che si tratta sempre e soltanto dello stesso ceppo di batteri a prescindere dalla denominazione *Lactobacillus casei* DG[®] CNCM I-1572 o *Lactobacillus paracasei* DG[®] CNCM I-1572.

Un ceppo di batteri identificato come *Lactobacillus paracasei* LPC-S01, denominato alternativamente *Lactobacillus paracasei* S01, è stato depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con il numero di accesso DSM 26760 in data 20 novembre 2012 da SOFAR S.p.A. (in breve, LPC-S01 o *L. paracasei* LPC-S01 DSM 26760 o (II.ii)). Viene precisato che si tratta sempre e soltanto dello stesso ceppo di batteri a prescindere dalla denominazione adottata dalla Richiedente *Lactobacillus paracasei* S01 DSM 26760 o *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 DSM 26760.

In una forma di realizzazione preferita della presente invenzione, la miscela (M) dell'invenzione, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende inoltre il ceppo di

batterio (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572), o loro derivati (i.e. miscela (III)+(M)+(II.i), in cui M può essere M.1, M.2, M.3 o M.4).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la miscela (M) dell'invenzione, oltre ad un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende inoltre il ceppo di batterio (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o loro derivati (i.e. miscela (III)+(M)+(II.ii), in cui M può essere M.1, M.2, M.3 o M.4).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la miscela (M) dell'invenzione, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende inoltre il ceppo di batterio (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572) e il ceppo di batterio (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o loro derivati (i.e. miscela (III)+(M)+(II.i)(II.ii), in cui M può essere M.1, M.2, M.3 o M.4).

Secondo un aspetto dell'invenzione, detta miscela (M) dell'invenzione comprende, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), un ceppo di batteri scelto nel gruppo A (o gruppo di miscele M.1), come definito nella presente invenzione, e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM

I-1572), o loro derivati (i.e.: (III) e (I.i) e (II.i), (III) e (I.ii) e (II.i), (III) e (I.iii) e (II.i), (III) e (I.iv) e (II.i); in breve miscela (III)+ M.1+(II.i)).

Secondo un aspetto dell'invenzione, detta miscela (M) dell'invenzione comprende, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), due ceppi di batteri scelti nel gruppo di miscele M.2, come definito nella presente invenzione, e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572), o loro derivati (i.e.: (III) e (I.i) e (I.ii) e (II.i), (III) e (I.i) e (I.iii) e (II.i), (III) e (I.i) e (I.iv) e (II.i), (III) e (I.ii) e (I.iii) e (II.i), (III) e (I.ii) e (I.iv) e (II.i), (III) e (I.iii) e (I.iv) e (II.i); in breve miscela (III)+M.2+(II.i)).

Secondo un aspetto dell'invenzione, detta miscela (M) dell'invenzione comprende, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), tre ceppi di batteri scelti nel gruppo di miscele M.3, come definito nella presente invenzione, e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572), o loro derivati (i.e.: (III) e (I.i) e (I.ii) e (I.iii) e (II.i), (III) e (I.i) e (I.ii) e (I.iv) e (II.i), (III) e (I.i) e (I.iii) e (I.iv) e (II.i), (III) e (I.ii) e (I.iii) e (I.iv) e (II.i); in breve miscela (III)+M.3+(II.i)).

In una forma di realizzazione preferita della presente invenzione, detta miscela (M) dell'invenzione comprende, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), i quattro ceppi di batteri (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02

(DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* B1IBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572), o loro derivati (in breve, miscela (III)+M.4+(II.i)).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, detta miscela (M) dell'invenzione comprende, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), i quattro ceppi di batteri (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* B1IBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e un ceppo di batteri (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o loro derivati (in breve, miscela (III)+M.4+(II.ii)).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, detta miscela (M) dell'invenzione comprende, oltre al ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708), i quattro ceppi di batteri (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* B1IBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572) e un ceppo di batteri (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o loro derivati (in breve, miscela (III)+M.4+(II.i)+(II.ii)).

Nel contesto della presente invenzione con il termine "miscela/e (M) dell'invenzione" vengono intese le miscele (III)+M.1, (III)+M.2, (III)+M.3, (III)+M.4,

Milano

(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) e (III)+M.4+(II.i)+(II.ii), come
 definite nel contesto della presente invenzione.

Forma oggetto della presente invenzione una composizione (in breve, composizione dell'invenzione) che comprende una miscela (M) che comprende o, alternativamente, consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e almeno uno o più ceppi di batteri (i.e. due, tre o quattro ceppi), o un suo/loro derivato, scelto nel gruppo A comprendente o, alternativamente, consistente di: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234), e, opzionalmente, detta composizione comprende almeno un additivo e/o eccipiente di grado alimentare o farmaceutico.

Nel contesto della presente invenzione con il termine "composizione/i dell'invenzione" vengono intese le composizioni comprendenti le miscele (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) e
(III)+M.4+(II.i)+(II.ii), come definite nel contesto
della presente invenzione.

In una forma di realizzazione, la composizione
dell'invenzione comprende una miscela ((III)+M.1)
comprendente o, alternativamente, consistente di: un
ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg
(DSM 32708) e un ceppo di batteri scelto nel gruppo A
che comprende o, alternativamente, consiste di: (I.i),
(I.ii), (I.iii) e (I.iv).

In una forma di realizzazione, la composizione
dell'invenzione comprende una miscela ((III)+M.2)
comprendente o, alternativamente, consistente di: un
ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg
(DSM 32708) e due ceppi di batteri scelti nel gruppo di
miscele M.2 come definito nella presente invenzione.

In una forma di realizzazione, la composizione
dell'invenzione comprende una miscela ((III)+M.3)
comprendente o, alternativamente, consistente di: un
ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg
(DSM 32708) e tre ceppi di batteri scelti nel gruppo di
miscele M.3 come definito nella presente invenzione.

In una forma di realizzazione preferita, la composizione
dell'invenzione comprende una miscela ((III)+M.4)
comprendente o, alternativamente, consistente di: un

ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e quattro ceppi di batteri, quali: (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BbIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) (in breve, (III), (I.i), (I.ii), (I.iii) e (I.iv)).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la composizione dell'invenzione comprende la miscela (M) dell'invenzione che, oltre a un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende almeno un ulteriore ceppo di batterio scelto nel gruppo B comprendente o, alternativamente, consistente di: un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572) e un ceppo di batteri (II.ii) *Lactobacillus paracasei* S01 (DSM 26760), quali miscela (III)+M+(II.i) o miscela (III)+M+(II.ii) o miscela (III)+M+(II.i)+(II.ii), in cui M può essere M.1, M.2, M.3 o M.4 come definiti nel contesto della presente invenzione.

In una forma di realizzazione preferita della presente invenzione, la composizione dell'invenzione comprende la miscela (M) dell'invenzione che, oltre a un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende inoltre un ceppo di batterio (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572), o loro derivati (i.e. miscela (III)+(M)+(II.i), in cui M può essere M.1,

M.2, M.3 o M.4).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la composizione dell'invenzione comprende la miscela (M) dell'invenzione che, oltre a un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende inoltre un ceppo di batterio (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o loro derivati (i.e. miscela (III)+(M)+(II.ii), in cui M può essere M.1, M.2, M.3 o M.4).

In una forma di realizzazione della presente invenzione, la composizione dell'invenzione comprende la miscela (M) dell'invenzione che, oltre a un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e ad almeno uno o più ceppi di batteri scelti nel gruppo A, comprende inoltre un ceppo di batterio (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572) e un ceppo di batterio (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), o loro derivati (i.e. miscela (III)+(M)+(II.i)(II.ii), in cui M può essere M.1, M.2, M.3 o M.4).

Secondo un aspetto dell'invenzione, la composizione dell'invenzione comprende detta miscela ((III)+M.1+(II.i)) dell'invenzione che comprende o, alternativamente consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e un ceppo di batteri scelti nel gruppo A (o gruppo di miscele M.1), come definito nella presente invenzione, e un

ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572).

Secondo un aspetto dell'invenzione, la composizione dell'invenzione comprende detta miscela ((III)+M.2+(II.i)) dell'invenzione che comprende o, alternativamente consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e due ceppi di batteri scelti nel gruppo di miscele M.2, come definito nella presente invenzione, e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572).

Secondo un aspetto dell'invenzione, la composizione dell'invenzione comprende detta miscela ((III)+M.3+(II.i)) dell'invenzione che comprende o, alternativamente consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e tre ceppi di batteri scelti nel gruppo di miscele M.3, come definito nella presente invenzione, e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572).

In una forma di realizzazione preferita della presente invenzione, la composizione dell'invenzione comprende detta miscela ((III)+(M.4)+(II.i)) dell'invenzione che comprende o, alternativamente consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e i quattro ceppi di batteri (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BbIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e un ceppo di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572).

In una forma di realizzazione della presente invenzione,

la composizione dell'invenzione comprende detta miscela ((III)+(M.4)+(II.ii)) dell'invenzione che comprende o, alternativamente consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e i quattro ceppi di batteri (I.i) *B. breve* BbIBS01 (DSM 33231), (I.ii) *B. breve* BbIBS02 (DSM 33232), (I.iii) *B. animalis subsp. lactis* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e un ceppo di batteri (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760).

Secondo un aspetto dell'invenzione, la composizione dell'invenzione comprende detta miscela ((III)+(M.4)+(II.i)+(II.ii)) dell'invenzione che comprende o, alternativamente consiste di: un ceppo di batteri (III) *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (DSM 32708) e i quattro ceppi di batteri (I.i), (I.ii), (I.iii) e (I.iv) e i ceppi di batteri (II.i) *Lactobacillus casei* DG[®] (CNCM I-1572) e (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760).

Preferibilmente, detti ceppi di batteri (i.e. (III), (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv), (II.i) e/o (II.ii)) sono compresi, indipendentemente l'uno dall'altro, nelle miscele (M) dell'invenzione in una concentrazione compresa nell'intervallo da 1×10^6 CFU a 1×10^{12} CFU, preferibilmente da 1×10^7 CFU a 1×10^{11} CFU, più preferibilmente da 1×10^8 CFU a 1×10^{10} CFU, ad esempio 1×10^9 CFU, rispetto alla dose giornaliera (CFU: Colony Forming Unit).

In una forma di realizzazione preferita, la miscela (III)+M.4 o (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)

(III)+M.4+(II.i)+(II.ii) o le relative composizioni dell'invenzione comprendono, indipendentemente l'una dall'altra, ciascuno dei ceppi batterici (III), (I.i), (I.ii), (I.iii), (I.iv) e, opzionalmente, (II.i) e/o (II.ii) in una concentrazione compresa nell'intervallo da 1×10^6 CFU a 1×10^{12} CFU, preferibilmente da 1×10^7 CFU a 1×10^{11} CFU, più preferibilmente da 1×10^8 CFU a 1×10^{10} CFU, ad esempio 1×10^9 CFU, rispetto alla dose giornaliera.

Preferibilmente, nella miscela (III)+M.2 o (III)+M.1+(II.i) o (III)+M.1+(II.ii) i ceppi di batteri sono in rapporto 1:1:1, nella miscela (III)+M.3 o (III)+M.2+(II.i) o (III)+M.2+(II.ii) i ceppi di batteri sono in rapporto 1:1:1:1, nella miscela (III)+M.4 o (III)+M.3+(II.i) o (III)+M.3+(II.ii) i ceppi di batteri sono in rapporto 1:1:1:1:1, nella miscela (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii) i ceppi di batteri sono in rapporto 1:1:1:1:1:1, nella miscela (III)+M.4+(II.i)+(II.ii) i ceppi di batteri sono in rapporto 1:1:1:1:1:1:1; in cui detti rapporti sono rispetto alla CFU.

In una forma di realizzazione, la composizione della presente invenzione, oltre a una di dette miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)), può comprendere almeno un ulteriore componente attivo selezionato dal gruppo comprendente o, alternativamente, consistente di altri ceppi di batteri vitali e/o paraprobiotici e/o postbiotici e/o lisati e/o tindalizzati e/o inattivati, enzimi, sostanze ad azione

antiacida diretta o indiretta, sostanze prebiotiche, sostanze probiotiche appartenenti alle famiglie di lieviti e batteri, sostanze immunostimolanti, sostanze antidiarroiche, sostanze nutritive, vitamine del gruppo B, C, D, E, sali organici e/o inorganici di magnesio, di selenio, di zinco, melatonina, valeriana, passiflora, melissa, biancospino, camomilla, luppolo, antiossidanti, agenti anti-radicali.

La composizione dell'invenzione, può essere in forma solida, quale compressa, compressa masticabile, capsula, losanga, granuli, scaglie o polvere, in forma semi-solida, quale soft-gel, crema, oppure in forma liquida, quale soluzione, sospensione, dispersione, emulsione o sciroppo.

La composizione dell'invenzione può essere formulata per uso (o somministrazione) orale (o gastroenterica), sublinguale (o buccale) o transmucosale, topico, rettale, cutaneo, vaginale; vantaggiosamente è formulata per uso orale.

La composizione dell'invenzione, comprendente o, alternativamente, consistente di una di dette miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)), comprende inoltre, opzionalmente, detto almeno un additivo e/o eccipiente di grado farmaceutico o alimentare, cioè una sostanza priva di attività terapeutica adatta per uso farmaceutico o alimentare. Nel contesto della presente invenzione gli

additivi e/o eccipienti accettabili per uso farmaceutico o alimentare comprendono tutte le sostanze ausiliarie note all'esperto del ramo per la preparazione di composizioni in forma solida, semi-solida o liquida, come, ad esempio, diluenti, solventi (tra cui acqua, glicerina, alcol etilico), solubilizzanti, acidificanti, addensanti, edulcoranti, aromatizzanti, coloranti, dolcificanti, lubrificanti, tensioattivi, conservanti, tamponi per stabilizzare il pH e loro miscele.

La composizione dell'invenzione, comprendente o, alternativamente, consistente di una di dette miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)), può essere una composizione farmaceutica (o *Live Biotherapeutic Products*), una composizione per dispositivo medico, un integratore alimentare, un alimento o *novel food* o prodotto probiotico, una composizione cosmetica, una composizione per un alimento a fini medici speciali.

Il termine "dispositivo medico" nel contesto della presente invenzione è usato nel significato secondo il Decreto Legislativo italiano 24 febbraio 1997, n. 46, oppure secondo il nuovo Regolamento Dispositivi Medici (UE) 2017/745 (MDR).

Formano ulteriore oggetto della presente invenzione dette miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) o dette composizioni dell'invenzione comprendenti una di dette

miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) per uso come medicamento.

Dette miscele (M) o dette composizioni dell'invenzione possono inoltre essere per uso come medicamento come coadiuvanti di ulteriori approcci terapeutici, preferibilmente di tipo farmacologico o alimentare.

In una forma di realizzazione, le miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) o le composizioni dell'invenzione sono per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di patologie, disturbi o sintomi gastrointestinali in un soggetto avente necessità, preferibilmente di disturbi gastrointestinali funzionali, quale la sindrome dell'intestino irritabile (IBS), dispepsia, pirosi, disturbi a carico dell'esofago, dello stomaco e del duodeno, SIBO (Sindrome da sovracrescita batterica), disturbi con stati sub-infiammatori, preferibilmente in cui detti stati sub-infiammatori sono in un soggetto anziano o in un soggetto con malattia diverticolare.

In una forma di realizzazione preferita, le miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) o le composizioni dell'invenzione sono per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di disturbi o sintomi della sindrome dell'intestino irritabile (IBS), sia alvo stitico, sia

alvo diarroico, sia alvo alternato, sia IBS inclassificata. Esempi specifici di disturbi o sintomi della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) che le miscele (M) dell'invenzione o composizioni dell'invenzione possono trattare sono: dolori addominali intermittenti, in forma di crampi, con intensità e localizzazione variabile; flatulenza; meteorismo; sensazione di gonfiore.

In una forma di realizzazione preferita dell'invenzione, la miscela (III)+M.4+(II.i) o la composizione comprendente la miscela (III)+M.4+(II.i), in cui detta miscela (III)+M.4+(II.i) comprendente o, alternativamente, consistente dei ceppi di batteri (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* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e (II.i) *Lactobacillus casei* DG® (CNCM I-1572), è per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di disturbi o sintomi della sindrome dell'intestino irritabile (IBS), sia alvo stitico, sia alvo diarroico, sia alvo alternato, sia IBS inclassificata.

In una forma di realizzazione alternativa dell'invenzione, la miscela (III)+M.4+(II.ii) o la composizione comprendente la miscela (III)+M.4+(II.ii), in cui detta miscela (III)+M.4+(II.ii) comprendente o, alternativamente, consistente dei ceppi di batteri (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* BlIBS01 (DSM 33233) e (I.iv) *L. plantarum* LpIBS01 (DSM 33234) e (II.ii) *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 (DSM 26760), è per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di disturbi o sintomi della sindrome dell'intestino irritabile (IBS), sia alvo stitico, sia alvo diarroico, sia alvo alternato, sia IBS inclassificata.

In una forma di realizzazione, le miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) o le composizioni dell'invenzione sono per uso in un metodo di trattamento di patologie, disturbi o sintomi gastrointestinali di natura infiammatoria in un soggetto avente necessità, quali *Helicobacter pylori*, ulcera peptica o gastrica, ulcera duodenale, malattie infiammatorie croniche intestinali, quali morbo di Crohn e colite ulcerosa, colite microscopica, malattia diverticolare e diverticolite.

In una forma di realizzazione, le miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) o le composizioni dell'invenzione sono per uso come immunomodulanti (capaci di modulare il sistema immunitario) e/o immunostimolanti del soggetto a cui sono somministrate. Pertanto, il ceppo batterico, o un suo derivato, e le composizioni della presente invenzione hanno una valida applicazione per il trattamento, preventivo o curativo, di patologie

associate ad alterazioni del sistema immunitario, in particolare malattie autoimmuni e allergie, malattie da immunodeficienza, malattie a carico della cute, quali acne, dermatite atopica.

Vantaggiosamente, le miscele (M) e le composizioni della presente invenzione sono in grado di modulare positivamente il *pathway* infiammatorio e, dunque, il rapporto tra citochine infiammatorie e citochine antinfiammatorie. In particolare, le miscele (M) della presente invenzione e le composizioni della presente invenzione sono in grado di ridurre la produzione delle citochine pro-infiammatorie, preferibilmente IL-6, IL-15, IL-12 e TNF- α , e/o aumentare la produzione delle citochine antinfiammatorie, preferibilmente IL-10.

Di conseguenza, in una forma di realizzazione della presente invenzione, le miscele (M) dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) e le composizioni dell'invenzione sono per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di patologie o sintomi o disturbi causati da o associati/accompagnati da un aumento delle citochine pro-infiammatorie e/o una riduzione delle citochine antinfiammatorie, preferibilmente patologie a carico di: apparato locomotore (sistema muscolare e scheletrico), apparato digerente, apparato uro-genitale (apparato urinario e apparato genitale), apparato respiratorio, apparato tegumentario, sistema immunitario e sistema circolatorio.

In una forma di realizzazione, dette miscele (M)

dell'invenzione (preferibilmente (III)+M.4+(II.i) o (III)+M.4+(II.ii)) o dette composizioni dell'invenzione sono per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di patologie infiammatorie muscolo-scheletriche, reumatologiche, infiammatorie articolari e infiammatorie in post-chirurgia, preferibilmente per uso in metodi di trattamento di osteoartrite, artrite reumatoide e spondilite anchilosante, in particolari osteoartriti del ginocchio e osteoartriti delle articolazioni in generale.

Forma oggetto della presente invenzione un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di patologie, disturbi o sintomi gastrointestinali, in particolare disturbi gastrointestinali funzionali, preferibilmente IBS (sia alvo stitico, sia alvo diarroico, sia alvo alternato, sia IBS inclassificata), che prevede la somministrazione di una delle miscele (M) dell'invenzione o delle composizioni dell'invenzione comprendenti una di dette miscele (M) dell'invenzione ad un soggetto avente necessità.

Per chiarezza, per raggiungere lo scopo della presente invenzione, i componenti (o componenti attivi) della miscela (M) dell'invenzione, quali i ceppi batterici nella presente invenzione, possono essere anche somministrati separatamente (preferibilmente in un intervallo di tempo da 30 minuti a 60 minuti) ed in qualunque ordine ma, preferibilmente, i ceppi di batteri sono somministrati ad un soggetto contemporaneamente,

ancora più preferibilmente in una unica composizione per ottenere un effetto più rapido e per facilità di somministrazione. Quando i componenti (o componenti attivi) della miscela (M) dell'invenzione, quali i ceppi batterici, sono somministrati in una unica composizione, detta unica composizione corrisponde alla composizione della presente invenzione.

Con il termine "soggetti" nell'ambito della presente invenzione vengono indicati soggetti umani o soggetti animali (e.g. animali da compagnia come cani o gatti o altri mammiferi). Preferibilmente, le composizioni dell'invenzione sono per uso in metodi di trattamento su soggetti umani.

Se non diversamente specificato, l'espressione composizione o miscela o altro che comprende un componente in una quantità "compresa in un intervallo da x a y" intende che detta componente può essere presente nella composizione o miscela o estratto o altro in tutte le quantità presenti in detto intervallo, anche se non esplicitate, estremi dell'intervallo compresi.

PARTE SPERIMENTALE

Valutazione dell'efficacia della combinazione di 6 ceppi di batteri vitali nel trattamento di pazienti con sindrome dell'intestino irritabile (IBS); studio multicentrico, randomizzato, doppio-cieco, a gruppi paralleli, controllato con placebo.

1. Obiettivi dello studio

Lo studio si prefigge di valutare:

- l'effetto della combinazione di 6 ceppi di batteri vitali (Composizione 1, secondo la presente invenzione) sui sintomi addominali in pazienti non costipati con sindrome dell'intestino irritabile (IBS);
- l'alleviamento dei sintomi della IBS
- la consistenza giornaliera delle feci;
- la soddisfazione globale con il trattamento;
- la qualità della vita;
- la compromissione psicologica;
- l'assunzione di farmaci di salvataggio;
- la composizione del microbiota intestinale e dei prodotti metabolici (metabolomica) - e, dunque, modifiche a livello dell'ecosistema microbico intestinale;
- la permeabilità intestinale;
- il recupero dei ceppi nelle feci;
- le modifiche del *pathway* infiammatorio.

Come obiettivo esplorativo a fine dello studio sarà valutata la possibilità di analizzare il microbiota nel sangue.

2. Disegno sperimentale

Studio multicentrico, randomizzato, doppio cieco, a gruppi paralleli, controllato con placebo.

Lo studio consiste in un periodo di *run-in* di 2 settimane, 12 settimane di trattamento e 4 settimane di *follow-up*, per un totale di 18 settimane per paziente completato.

Il periodo di arruolamento stimato sarà di circa 15 mesi.

3. Pazienti

Pazienti di sesso maschile o femminile di età ≥ 18 anni, con diagnosi di IBS senza costipazione (vedere sotto) in accordo con i criteri di Roma IV edizione.

Il criterio diagnostico per IBS, soddisfatti per i 3 mesi precedenti con insorgenza dei sintomi almeno 6 mesi prima della diagnosi, è il dolore addominale ricorrente almeno 1 giorno la settimana, associato con 2 o più dei seguenti:

- 1) Relativo alla defecazione;
- 2) Associato al cambiamento nella frequenza delle feci;
- 3) Associato con il cambiamento nella forma (aspetto) delle feci;

I pazienti affetti da IBS senza costipazione includono:

- 1) IBS con diarrea predominante (IBS-D): più di un quarto (25%) dei movimenti intestinali con forma delle feci (Bristol) tipo 1 o 2.

IBS con abitudini intestinali miste (IBS-M): più di un quarto (25%) dei movimenti intestinali con forma delle feci (Bristol) tipo 1 o 2 e più di un quarto (25%) dei movimenti intestinali con forma delle feci (Bristol) tipo 6 o 7.

4. Criteri di inclusione

- Età ≥ 18 e ≤ 65 anni.
- Diagnosi positive di IBS senza costipazione (IBS-D e IBS-M, entrambi maschi e femmine) in accordo con i criteri di Roma IV ed.
- Esito negativo di una colonscopia eseguita nei 5 anni precedenti alla visita di screening nel caso il/la paziente abbia meno di 50 anni di età, o nel caso il/la paziente presenti uno di questi segnali di allarme:
 - 1) abbia una significativa perdita di peso documentata negli ultimi 6 mesi; oppure
 - 2) presenti sintomi durante la notte; oppure
 - 3) abbia una storia familiare di cancro al colon; oppure
 - 4) abbia sangue misto alle feci (escludendo sangue da emorroidi).
- Esito negativo per ulteriori screening rilevanti o consultazioni, ove appropriato.
- Abilità ad aderire al protocollo di studio.

5. Criteri di esclusione

- Pazienti con IBS-C o IBS-U in conformità con i criteri di Roma IV ed.
- Presenza di una qualsiasi malattia organica, sistemica o metabolica rilevante (storia particolarmente significativa di patologie cardiache, renali, neurologiche, psichiatriche, oncologiche, endocrinologiche, metaboliche o epatiche), o valori di laboratorio anormali, rilevati durante il periodo di *run-in*, considerati clinicamente significativi sulla base di valori predefiniti (es. livelli funzionali

renali o epatici 2 volte maggiori rispetto ai valori superiori di riferimento).

- Malattie organiche intestinali accertate, comprese allergie alimentari o malattie infiammatorie intestinali (morbo di Crohn, colite ulcerosa, malattia diverticolare, colite infettiva, colite ischemica, colite microscopica).

- Precedente chirurgia addominale maggiore.

- Tumore maligno attivo di qualsiasi tipo, o storia di tumore maligno (i pazienti con una storia clinica di altre neoplasie che sono state rimosse chirurgicamente e che non hanno alcuna evidenza di recidiva per almeno cinque anni precedenti l'arruolamento nello studio sono accettabili).

- Intolleranza alimentare non trattata come accertata.

- Sospetta intolleranza al lattosio, come definita dalla valutazione anamnestica o, se del caso, *breath test* al lattosio.

- Uso di probiotici o terapia antibiotica topica/sistemica durante l'ultimo mese.

- Utilizzo frequente o sistematico di lassativi di contatto.

- Donne in stato di gravidanza o donne in età riproduttiva in assenza di metodi contraccettivi efficaci.

- Inabilità ad aderire al protocollo.

- Trattamento con un qualsiasi farmaco sperimentale nei 30 giorni precedenti.

- Storia recente o sospetto di abuso di alcol o

dipendenza da droghe.

- Presenza di *flag* rosso o bianco secondo i criteri di Roma IV ed.
- *Psychosocial Alarm Questionnaire for Functional gastrointestinal Disorders*.

6. Trattamento

- Composizione 1 secondo la presente invenzione: *Lactobacillus casei* DG[®], *Lactobacillus plantarum* LpIBS01, *Bifidobacterium breve* BbIBS01, *Bifidobacterium breve* BbIBS02, *Bifidobacterium animalis sub. lactis* BlIBS01, *Bifidobacterium bifidum* BbIBS01= MIMBb23sg), 1 capsula/bustina al giorno per 12 settimane.
- Composizione 2 (placebo), indistinguibile dalla Composizione 1, una capsula/bustina al giorno per 12 settimane.

7. Randomizzazione

I pazienti arruolabili entreranno in una fase di *run-in* di 2 settimane e quindi verranno assegnati casualmente con un rapporto 1:1 al trattamento con Composizione 1 (composizione secondo l'invenzione) o al prodotto equivalente senza batteri (Composizione 2), simile in colore, texture e sapore, due volte al giorno per 12 settimane. Il disegno dello studio clinico con le fasi di *run-in*, trattamento e *follow-up* sono riportate in Figura 1.

8. Popolazione per analisi

- Full Analysis Set (FAS): è costituito da tutti i

pazienti randomizzati.

- Safety Set: è costituito da tutti i pazienti randomizzati che ricevono almeno una dose di trattamenti di studio e hanno almeno una valutazione di sicurezza post-baseline.

- Protocol Set (PP): è costituito da tutti i pazienti randomizzati che completano lo studio senza alcuna violazione significativa del protocollo.

- Intention to Treat Set (ITT): è costituito da tutti i pazienti randomizzati che ricevono almeno una dose di trattamenti di studio e hanno almeno una valutazione di efficacia post-baseline.

RIVENDICAZIONI

1. Una composizione che comprende una miscela M che comprende o, alternativamente, consiste di:

- un ceppo di batteri identificato come *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbfIBS01) e depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con il numero di deposito DSM 32708 in data 14 novembre 2017 da Sofar S.p.A, o un suo derivato; e
- almeno un ceppo di batteri, o un suo derivato, scelto nel gruppo A che comprende o, alternativamente, consiste di:

- un ceppo di batteri identificato come *Bifidobacterium breve* BbIBS01 e depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33231 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A.,

- un ceppo di batteri identificato come *Bifidobacterium breve* BbIBS02 e depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33232 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A.,

- un ceppo di batteri identificato come *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BlIBS01 e depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33233 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A.,

- un ceppo di batteri identificato come *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 e depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con numero di deposito DSM 33234 in data 31 luglio 2019 da Sofar S.p.A.,

e loro miscele;

e, opzionalmente, detta composizione comprende almeno un additivo e/o eccipiente di grado alimentare o farmaceutico.

2. Una composizione secondo la rivendicazione 1, in cui detta miscela M comprende o, alternativamente, consiste dei ceppi di batteri:

- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbfIBS01) DSM 32708 o un suo derivato,

- *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231 o un suo derivato,

- *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232 o un suo derivato,

- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BlIBS01 DSM 33233 o un suo derivato, e

- *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o un suo derivato.

3. Una composizione secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui detta miscela M comprende inoltre almeno un ulteriore ceppo di batteri scelto nel gruppo B comprendente o, alternativamente, consistente di:

- un ceppo di batteri identificato come *Lactobacillus casei* DG[®] e depositato presso la Collezione Nazionale di

Colture di Microrganismi dell'Istituto Pasteur di Parigi con il numero di accesso CNCM I-1572 in data 05 maggio 1995 da SOFAR S.p.A., e

- un ceppo di batteri identificato come *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 e depositato presso il Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) con il numero di accesso DSM 26760 in data 20 novembre 2012 da SOFAR S.p.A., o loro derivati.

4. Una composizione secondo la rivendicazione 3, in cui detta miscela M comprende o, alternativamente, consiste dei ceppi di batteri:

- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbfIBS01) DSM 32708 o un suo derivato,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231 o un suo derivato,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232 o un suo derivato,
- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BlIBS01 DSM 33233 o un suo derivato,
- *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o un suo derivato, e
- *Lactobacillus casei* DG® CNCM I-1572 o un suo derivato.

5. Una composizione secondo la rivendicazione 3, in cui detta miscela M comprende o, alternativamente, consiste dei ceppi di batteri:

- *Bifidobacterium bifidum* MIMBb23sg (o BbfIBS01) DSM 32708 o un suo derivato,

- *Bifidobacterium breve* BbIBS01 DSM 33231 o un suo derivato,
- *Bifidobacterium breve* BbIBS02 DSM 33232 o un suo derivato,
- *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BlIBS01 DSM 33233 o un suo derivato,
- *Lactobacillus plantarum* LpIBS01 DSM 33234 o un suo derivato, e
- *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 DSM 26760 o un suo derivato.

6. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5, in cui detta composizione è formulata per uso orale, sublinguale o buccale, transmurale, topico, rettale, cutaneo o vaginale; preferibilmente è formulata per uso orale.

7. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 6, in cui detta composizione è per uso come medicamento.

8. La composizione secondo la rivendicazione 7, in cui detta composizione è per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, di patologie, disturbi o sintomi gastrointestinali, preferibilmente di disturbi gastrointestinali funzionali o gastrointestinali antiinfiammatori.

9. La composizione secondo la rivendicazione 8, in cui detta composizione è per uso in un metodo di

trattamento, preventivo o curativo, di sindrome dell'intestino irritabile (IBS), dispepsia, pirosi, disturbi a carico dell'esofago, dello stomaco e del duodeno, sindrome da sovraccrescita batterica (SIBO), disturbi gastrointestinali con stati sub-infiammatori.

10. La composizione secondo la rivendicazione 9, in cui detta composizione è per uso in un metodo di trattamento, preventivo o curativo, della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) alvo stitico o della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) alvo diarroico o della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) alvo alternato o della sindrome dell'intestino irritabile (IBS) inclassificata.

1/1

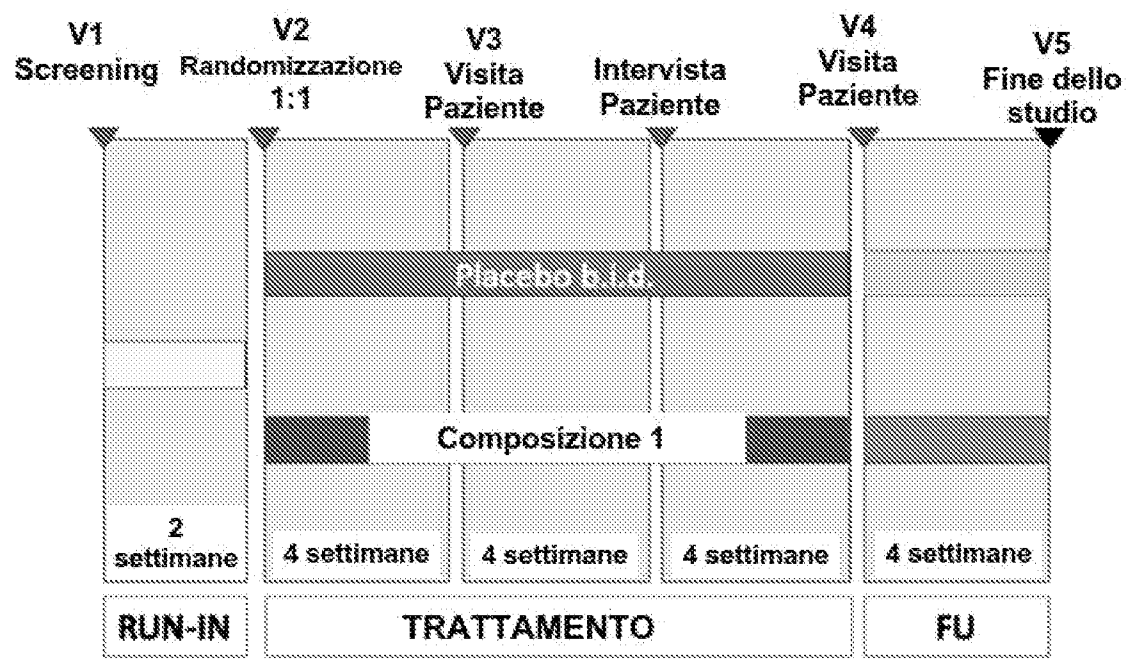


Figura 1