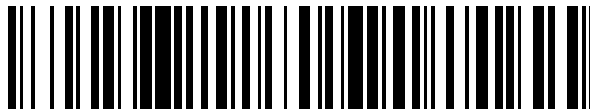


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 436 251**

21 Número de solicitud: 201230796

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)
A61K 35/74 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

25.05.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

27.12.2013

56 Se remite a la solicitud internacional:

PCT/ES2013/070309

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)
C/ Serrano, 117
28006 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**SANZ HERRANZ, Yolanda;
GAUFFIN CANO, Paola;
SANTACRUZ, Yolanda Arlette;
MOYA PÉREZ, Ángela y
LAPARRA LLOPIS, Moisés**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

54 Título: **BACTEROIDES CECT 7771 Y SU USO EN LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE SOBREPESO, OBESIDAD Y ALTERACIONES METABÓLICAS E INMUNOLÓGICAS.**

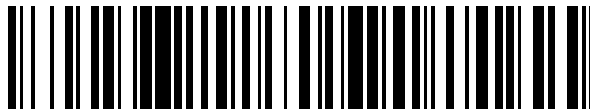
ES 2 436 251 A1

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 436 251**

21 Número de solicitud: 201230796

57 Resúmen:

Bacteroides CECT 7771 y su uso en la prevención y tratamiento de sobrepeso, obesidad y alteraciones metabólicas e inmunológicas.

La presente invención se refiere a una cepa de Bacteroides uniformis con número de depósito CECT 7771, así como a sus componentes celulares, metabolitos y/o moléculas secretadas. Es también objeto de la invención, una composición (nutritiva o farmacéutica) que comprende al menos uno de los productos anteriores.

Asimismo, la presente invención también hace referencia al uso de una cepa de Bacteroides uniformis; preferentemente CECT 7771, o de los componentes celulares, metabolitos y/o moléculas secretadas de dicha cepa; o de una composición que los comprenda, para la prevención y/o tratamiento de alteraciones tales como sobrepeso, obesidad, hipertrofia de adipocitos, esteatosis hepática o hígado graso, dislipemia, hiperglicemia, resistencia a insulina y diabetes, síndrome metabólico, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, disfunción del sistema inmune, reducción de las defensas frente a infecciones, y desequilibrio en la composición de la microbiota intestinal.

ES 2 436 251 A1

***Bacteroides* CECT 7771 y su uso en la prevención y tratamiento de sobrepeso, obesidad y alteraciones metabólicas e inmunológicas**

DESCRIPCIÓN

5

Sector de la técnica

10 La presente invención se encuadra dentro del campo farmacéutico y de la alimentación. En concreto, la presente invención se refiere a la cepa *Bacteroides uniformis* CECT 7771, a sus componentes celulares, metabolitos, y moléculas secretadas, y a composiciones que comprendiendo al menos uno de los productos anteriores, pueden comprender además otros microorganismos u otros compuestos con actividad biológica. Asimismo, la presente invención también se refiere al uso de una cepa de la especie *B. uniformis* o al uso de la cepa CECT 7771 para la prevención y/o tratamiento de alteraciones como son el sobrepeso, la obesidad, la esteatosis hepática o hígado graso, la dislipemia y, en particular, la hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia; la hiperglicemia, 15 resistencia a insulina y la diabetes, preferiblemente diabetes Mellitus tipo 2 y diabetes gestacional; el síndrome metabólico, la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares, la disfunción del sistema inmune asociado o no a estas patologías, preferentemente la inflamación en tejidos periféricos (adiposo y páncreas) y la reducción de las defensas frente a infecciones, y el desequilibrio en la composición de la microbiota intestinal.

20 **Estado de la técnica anterior**

25 El sobrepeso y la obesidad constituyen, actualmente, uno de los principales problemas de salud pública debido a su creciente prevalencia y co-morbilidades. Entre éstas se incluyen por ejemplo la dislipemia, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, la aterosclerosis, la esteatosis hepática o hígado graso, el síndrome metabólico, la hipertensión y algunos tipos de cáncer.

30 La obesidad se produce como consecuencia de un desequilibrio positivo y prolongado entre la ingesta y el gasto energético, que conlleva aumento excesivo del peso y la grasa corporal. En el control del balance energético intervienen péptidos y hormonas sintetizados por el sistema neuroendocrino que permiten la comunicación entre diversos tejidos y órganos periféricos y, el sistema nervioso central que, globalmente, contribuyen a regular el peso corporal. En el control de la ingesta a largo plazo son primordiales las señales que emanan del tejido adiposo (leptina) y el páncreas (insulina) (Konturek *et al.*, 2004. *J Physiol Pharmacol.*, 55: 137-154). La insulina es la hormona más importante en la regulación del buen funcionamiento del tejido adiposo y la acumulación de triglicéridos en el mismo, y en la captación de la glucosa. En el tejido adiposo normal sensible a la insulina el almacenamiento de grasa se produce aquí, como respuesta a la insulina y otras hormonas (leptina), mediante la estimulación de la lipoproteína lipasa e inhibición de la lipólisis. Sin embargo, el acúmulo excesivo de ácidos grasos en el tejido adiposo asociado a la obesidad reduce la sensibilidad a la insulina, lo que promueve el acumulo de ácidos grasos libres en forma de triglicéridos en otros órganos y tejidos (hígado, músculo, corazón, etc.), y causa alteraciones en la producción o sensibilidad a la leptina, y el aumento de la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias, lo que conlleva a su vez mayor riesgo de desarrollo de enfermedades asociadas (síndrome metabólico, hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc.). En el sistema nervioso central, la señalización por insulina también es esencial para el control del balance energético y la homeostasis de la glucosa, y es dependiente de su interacción con otros factores reguladores, como la leptina, que actúan conjuntamente como factores anorexigénicos, reduciendo la ingesta (Gerozissis K., 2004. *Eur J Pharmacol.*, 490(1-3): 59-70). La leptina es una hormona/adipoquina sintetizada principalmente por el tejido adiposo y, en menor medida, por otros tejidos como el estómago, y su secreción es estimulada por la insulina. A nivel del sistema nervioso central, la leptina suprime el apetito, aumenta el gasto energético e interviene en procesos vitales como la función de células β pancreáticas favoreciendo la secreción de insulina (La Cava A, Matarese G. The weight of leptin in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2004 May;4(5):371-9). A nivel periférico, la leptina actúa reduciendo la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos, y aumentando la oxidación lipídica. No obstante, en sujetos obesos las concentraciones periféricas de esta adipoquina son anormalmente elevadas y se produce una resistencia a la misma. Las altas concentraciones de leptina en sujetos obesos, además de constituir un marcador de alteraciones metabólicas, puede modificar la respuesta inmunitaria y contribuir al estado de inflamación asociado a la obesidad.

55

60 La esteatosis hepática o hígado graso no alcohólico es una alteración con alto grado de asociación con la obesidad y se presenta hasta en un 50% de individuos obesos, tanto niños como adultos, constituyendo la principal enfermedad hepática actualmente. Asimismo, las dislipemias (hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia) se asocian a la obesidad, la diabetes Mellitus tipo 2 y la hipertensión y constituyen el principal factor de riesgo de patologías cardiovasculares. La reducción de las concentraciones de triglicéridos y colesterol en el suero de sujetos con concentraciones anormalmente elevadas de estos parámetros bioquímicos son beneficiosas y, muy especialmente, la reducción del colesterol LDL ya que se considera un claro factor de riesgo de patologías cardiovasculares y su disminución está relacionada con una reducción de la morbilidad y la mortalidad total por patologías cardiovasculares a largo plazo. En este contexto el hígado juega una función importante porque es el principal órgano encargado del mantenimiento de la homeostasis del colesterol (mantenimiento de concentraciones fisiológicas). El hígado produce la síntesis del 15% del colesterol *de novo*, y este proceso está,

65

a su vez, regulado por el colesterol de la dieta. Los niveles de colesterol se mantienen en un nivel constante por diferentes mecanismos, incluyendo (i) la regulación de la actividad y concentración de la enzima la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa (ii) la regulación de la enzima acil-CoA:colesterol aciltransferasa, ACAT, que controla el exceso de colesterol intracelular libre y su transformación en ésteres de colesterol que es en la forma en la que son transportados, y (iii) la regulación de la expresión de los receptores hepáticos de la LDL que permiten la absorción del colesterol del plasma y el transporte reverso de éste por la HDL. El colesterol recién formado en el hígado es liberado a la sangre, inicialmente, en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y puede contribuir a su aumento. No obstante, el hígado también contribuye a la eliminación del colesterol en sangre mediante varios mecanismos: (i) la conversión en ácidos biliares, (ii) el transporte del exceso de colesterol hacia el intestino para su excreción fecal y (iii) la conversión de VLDL a LDLc y TG que serán utilizados como fuentes de energía en tejidos extra-hepáticos. Las alteraciones en el metabolismo lipídico que afectan al perfil de lípidos en sangre y su acumulación en tejidos periféricos también pueden darse en sujetos no obesos, precediendo a la obesidad, o bien producirse por causas distintas a la obesidad incluyendo las de origen genético (e.g. enfermedades congénitas), infeccioso (e.g. hepatitis vírica), autoinmune, nutricional (e.g. malnutrición) o derivadas de otras situaciones clínicas o tratamientos farmacológicos (e.g. uso de fármacos).

La obesidad también se considera un estado de inflamación crónica leve, caracterizado por una elevada producción de citoquinas, adipoquinas y otras proteínas pro-inflamatorias en el tejido adiposo así como en otros tejidos periféricos y a nivel sistémico, que contribuyen a las alteraciones metabólicas que pueden sufrir estos individuos de forma permanente, como la diabetes Mellitus tipo 2 y las patologías cardiovasculares (Tilg y Moschen, 2006. *Nat Rev Immunol.*, 6: 772-783). Entre los factores inflamatorios relacionados con la obesidad y alteraciones metabólicas, destacan la citoquina pro-inflamatoria TNF- α . En particular, el TNF- α reduce la expresión de genes involucrados en la acción de la insulina (por ejemplo la del gen de su receptor), atenúa la señalización por insulina e inhibe la acción de la lipoproteína lipasa estimulada por la insulina. Esto favorece el desarrollo de resistencia a insulina y de esteatosis hepática. La función de citoquinas proinflamatorias en este proceso se ha puesto de manifiesto también mediante el uso de fármacos basados en anticuerpos anti-TNF- α para mejorar patologías como la esteatosis hepática y la diabetes Mellitus tipo 2 (Tilg y Moschen, 2006. *Nat Rev Immunol.*, 6: 772-783).

La obesidad también se caracteriza por alteraciones en las funciones de diversas células del sistema inmunitario, como los macrófagos, las células dendríticas y las células T, asociadas a deficiencias en la defensa frente a patógenos y otros antígenos, y a un mayor riesgo de infecciones y complicaciones postoperatorias. Los macrófagos del tejido adiposo presentan menor capacidad fagocítica y reducción del estallido respiratorio, que son procesos implicados en la respuesta del sistema inmune innato frente a agentes infecciosos (Zhou *et al.*, 2009. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(26):10740-5.). Además, las células dendríticas presentan alteraciones en su capacidad para estimular las células T, implicadas en la respuesta inmune adaptativa responsable, por ejemplo, de la producción de anticuerpos en vacunación y responsable de la respuesta de células T de memoria en casos de infección (Karlsson *et al.*, 2010. *J Immunol.*, 184:3127-33).

Los cambios sociales asociados al aumento regular de la ingesta de alimentos con alta carga energética y una baja actividad física se consideran las principales causas del aumento de la incidencia de la obesidad en todo el mundo. Sin embargo, los tratamientos tradicionales basados en dietas hipocalóricas y aumento de la actividad física muestran una eficacia reducida en el control de la obesidad y, por lo general, conducen a reducciones de peso limitadas y temporales. El uso de estrategias farmacológicas tampoco ha sido satisfactorio ya que conlleva efectos secundarios. Como consecuencia, se siguen buscando nuevas estrategias de intervención que mejoren el tratamiento y posibiliten la prevención de estas patologías.

La microbiota que coloniza el intestino humano se considera un nuevo factor implicado en la obesidad y las enfermedades asociadas, a través de su capacidad para regular las funciones metabólicas e inmunológicas del individuo (Sanz *et al.*, 2010. *Proc Nutr Soc.*, 14: 1-8.). En los últimos años diversos estudios han establecido una asociación entre un aumento en la proporción de miembros del filo Bacteroidetes y un fenotipo delgado o pérdida de peso y por el contrario su reducción se ha asociado a un fenotipo obeso (Ley *et al.*, 2006. *Nature*, 444: 1022-1023; Nadal *et al.*, 2008. *Int J Obes.*, 33(7): 758-67); no obstante, no se han aportado evidencias directas del posible efecto de cepas del género *Bacteroides* ni de cepas de la especie *Bacteroides uniformis* administradas por vía oral en la obesidad. En la patente WO/2008/076696 se ha propuesto el uso de cambios en la microbiota intestinal como diagnóstico de la obesidad y su modificación como modo de tratar la obesidad aumentando la proporción del filo Bacteroidetes y reduciendo la del filo Firmicutes. No obstante, estos grupos filogenéticos integran más de 90 y 200 especies y sub-especies distintas, respectivamente, cuyos efectos individuales pueden ser muy diferentes y contrapuestos. De hecho, el documento WO/2008/076696 no demuestra que ninguna especie o cepa concreta del filo Bacteroidetes ejerza un efecto beneficioso en este contexto y, por el contrario, la única especie evaluada *Bacteroides thetaiotaomicron* en modelos animales causa aumento del peso corporal y del tejido adiposo y resistencia a la insulina (Samuel y Gordon. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 27;103(26):10011-6). En la patente US 2009/0110664A1 se ha propuesto el uso del género *Bacteroides* para la pérdida de peso corporal, pero administrando las bacterias tras una limpieza o eliminación de los propios

componentes del tracto intestinal, a diferencia de la presente invención. Además, esta patente no aporta resultados de los efectos sobre el peso corporal de ninguna especie o cepa de este género.

Otras estrategias basadas en el uso de ciertos ingredientes o suplementos alimentarios, tan sólo abordan el problema de la obesidad o de las patologías debidas a alteraciones del metabolismo de lípidos y glucosa de un modo parcial, como es el caso de los estanoles o fitoesteroles, que tan sólo actúan reduciendo la absorción de colesterol de la dieta, que no es la única causa de su elevación en plasma. Asimismo, fármacos como las estatinas que inhiben la síntesis endógena de colesterol y son los hipolipemiantes, no llegan a alcanzar la eficacia necesaria por tratarse de monoterapias centradas en un solo mecanismo de acción.

Por tanto, persiste el problema de encontrar los componentes específicos de la microbiota intestinal comensal que puedan ser utilizados para prevenir y/o tratar enfermedades como el sobrepeso, la obesidad, y las patologías metabólicas asociadas o no a la obesidad y relacionadas con alteraciones del metabolismo de lípidos y glucosa, como por ejemplo la dislipemia, la esteatosis hepática, el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina, la diabetes Mellitus tipo 2, la diabetes gestacional, la hipertensión y las patologías cardiovasculares, de una forma más idónea actuando conjuntamente sobre el malfuncionamiento del sistema inmunitario y el metabolismo, responsable de las patologías crónicas.

Explicación de la invención

La presente invención se refiere a la cepa *Bacteroides uniformis* CECT 7771, a los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas de dicha cepa, y a sus combinaciones; y a las composiciones que comprenden al menos uno de los productos anteriores y que pueden comprender otros microorganismos y/u otros componentes bioactivos, así como a su uso para la prevención y/o tratamiento del sobrepeso y/o de la obesidad, y de las alteraciones metabólicas asociadas como la dislipemia, la esteatosis hepática, la resistencia a insulina y diabetes, el síndrome metabólico, la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares o la disfunción del sistema inmune con consecuencias sobre estas u otras patologías como las infecciones. La presente invención también se refiere al uso de dicha cepa para la prevención y/o tratamiento de éstas alteraciones cuando no se presentan asociadas con un problema de sobrepeso y/o de obesidad.

La cepa CECT 7771 que pertenece a la especie *B. uniformis*, presenta propiedades inmunológicas comparativamente más favorables que otras cepas de la misma especie, y otras especies del género *Bacteroides*. La cepa CECT 7771 induce significativamente menor producción de la citoquina pro-inflamatoria TNF- α en macrófagos que el resto de cepas del mismo género que forman parte de la microbiota intestinal humana, excepto *B. dorei* SS1 y *B. thetaiotaomicron* SAC4 con las que las diferencias no llegan a ser significativas (Ejemplo 2; Tabla 1). La cepa CECT 7771 también induce una mayor síntesis de la citoquina anti-inflamatoria IL-10 que el resto de cepas evaluadas (Ejemplo 2; Tabla 1). Otras cepas de la misma especie (*B. uniformis*) evaluadas indujeron una proporción significativamente superior de la razón TNF- α /IL-10 que la cepa objeto de la patente (CECT 7771), indicando que el balance de citoquinas pro- y anti-inflamatorias inducido por esta última es más favorable que el inducido por el resto de cepas (Ejemplo 2; Tabla 1). Tal como se ha argumentado en el apartado del estado de la técnica, la síntesis de TNF- α por macrófagos se ha relacionado directamente con la obesidad, la dislipemia, la esteatosis hepática, la diabetes, la hipertensión y el riesgo de patologías cardiovasculares. La capacidad de la cepa de la invención para aumentar la síntesis de la citoquina anti-inflamatoria IL-10 también es una propiedad relevante porque puede contribuir a reducir la inflamación crónica asociada a la obesidad y las alteraciones metabólicas. Estudios realizados con hepatocitos también indican que la cepa CECT 7771 reduce la acumulación de triglicéridos y colesterol y mejora la sensibilidad a la insulina y la utilización de glucosa en comparación con otras especies del género *Bacteroides* y con otras cepas de la especie *B. uniformis* (Ejemplo 2, FIG 1). Todos estos resultados demuestran la mayor idoneidad de la cepa objeto de la patente para controlar la inflamación y el metabolismo de lípidos y de glucosa que otras especies y cepas del género *Bacteroides*. Estudios realizados por nuestro grupo también indican que la lactancia materna favorece un aumento de la prevalencia de la especie objeto de la patente (*B. uniformis*) en la microbiota de niños en los primeros estadios de la vida pero no en aquellos sometidos a lactancia artificial (Sánchez *et al.* 2011. Appl Environ Microbiol. 2011; 77(15):5316-23.) y, a su vez, la lactancia materna protege frente al desarrollo de obesidad y alteraciones metabólicas.

Globalmente, los resultados obtenidos con cultivos de macrófagos y hepatocitos indican que la especie *B. uniformis* es especialmente idónea para su uso en estas patologías, en comparación con el resto de especies encontradas en humanos que no muestran estas propiedades (por ejemplo y sin limitar, *B. thetaiotaomicron*) y, en particular pero sin limitar, la cepa *B. uniformis* CECT 7771.

Además de la selección específica de la cepa objeto de la invención y a diferencia del estado de la técnica, la presente invención aborda el tratamiento de la obesidad con una perspectiva multifactorial y actúa sobre nuevas dianas claves para la prevención y/o tratamiento de esta patología y otras alteraciones metabólicas asociadas o no a la obesidad, no descritas para ninguna cepa conocida de la especie *Bacteroides uniformis*. El hecho más interesante es que ninguna de las cepas conocidas de esta especie ha mostrado ser útil para el tratamiento simultáneo y eficaz de todas las afecciones indicadas a lo largo de la presente invención.

Por tanto, la presente invención aporta al estado de la técnica una cepa de la especie *B. uniformis* de alto valor para el tratamiento del sobrepeso y/o de la obesidad, así como determinadas patologías como por ejemplo pero sin limitarse, la esteatosis hepática, la dislipemia, la resistencia a insulina, la diabetes, el síndrome metabólico, la hipertensión o las enfermedades cardiovasculares asociadas o no a la obesidad. Asimismo, la presente invención aporta al estado de la técnica una cepa de la especie *B. uniformis* que mejora las alteraciones del sistema inmunológico y, en particular, la inflamación de tejidos periféricos asociada a las patologías crónicas mencionadas y la reducción de las defensas frente a infecciones y, además, permite restablecer la composición de la microbiota intestinal que también contribuye a las patologías citadas.

Esencialmente, las ventajas que presenta el uso de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 de la presente invención son las siguientes:

- La administración de la cepa objeto de la invención produce una reducción del peso corporal en sujetos obesos (Ejemplo 3; Tabla 2).

- La administración de la cepa objeto de la invención da lugar a una reducción de la grasa acumulada en el hígado en sujetos obesos y no obesos (Ejemplo 3, FIG. 2). Concretamente, en sujetos normopeso la cepa *B. uniformis* CECT 7771 produce un aumento del número de hepatocitos sin esteatosis (grado 0) y una reducción del de hepatocitos con una esteatosis de grado 1 y 2. En sujetos obesos, la cepa produce un aumento de los hepatocitos con menor grado de esteatosis (grado 0 y 1) y una reducción de los de mayor grado de esteatosis (grado 2 y 3); sin embargo, en sujetos obesos a los que no se les administra la cepa, la proporción del tipo de hepatocitos es inversa, predominando los de máximo contenido en grasa. De este modo se demuestra que la administración de la cepa reduce la acumulación total de grasa en el hígado inducida o no por la dieta. Cortes histológicos de tejido hepático también demuestran estos efectos (Ejemplo 3, FIG 2). La cepa *B. uniformis* CECT 7771 también reduce las concentraciones de triglicéridos y colesterol en el hígado en sujetos obesos (Ejemplo 3, Tabla 2).

- La administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 produce una reducción del tamaño de los adipocitos en sujetos obesos (Ejemplo 3, FIG. 3). En particular, la administración de la cepa CECT 7771 a animales obesos da lugar a un aumento de adipocitos de pequeño tamaño ($<2000 \mu\text{m}^2$) a expensas de la reducción de los de mayor tamaño en tejido epididimal, mientras que en los animales obesos a los que no se les ha administrado la cepa se produce un aumento de todos los adipocitos de gran tamaño ($>2000-7000 \mu\text{m}^2$) (Ejemplo 3, FIG. 3). Cortes histológicos de tejido adiposo también demuestran estos efectos (Ejemplo 3, FIG 3).

El hecho de que la cepa CECT 7771 reduzca el tamaño de los adipocitos, demuestra que es útil para el tratamiento de la hipertrofia de los adipocitos, que si se mantiene en el tiempo y sucede en un gran número de adipocitos, puede provocar sobrepeso y obesidad y resistencia a insulina. Esto es debido a que los adipocitos de mayor tamaño secretan mayor concentración de factores de crecimiento que desencadenan la adipogénesis a través de la diferenciación de los preadipocitos, generándose un proceso de retroalimentación. Además, los adipocitos con hipertrofia producen una concentración anormalmente elevada de citoquinas y quimioquinas inflamatorias (TNF- α , MCP-1, resistina, etc.) que inhiben la señalización por insulina en los hepatocitos y provocan resistencia a la insulina y alteran la distribución corporal de lípidos. Por ejemplo el aumento del tamaño de los adipocitos también está relacionado con el aumento del aporte de ácidos grasos al hígado, que da lugar a esteatosis hepática y sus complicaciones. Por tanto, la cepa puede asimismo contribuir a prevenir o mejorar estas patologías asociadas.

- La cepa *B. uniformis* CECT 7771 reduce el número de glóbulos de grasa en los enterocitos, es decir, reduce la cantidad de grasa de la dieta que puede ser absorbida y pasar a linfa y sangre en forma de quilomicrones y, de este modo, a tejidos periféricos (Ejemplo 3, FIG. 4).

La absorción aumentada de la grasa de la dieta, además, de poder ser causa de sobrepeso y/o de obesidad por provocar un incremento de su acumulación en el tejido adiposo, puede estar asociada a otras patologías sin que se llegue a provocar sobrepeso u obesidad, como por ejemplo y sin que limite el alcance de la invención, la dislipemia, el síndrome metabólico, la hipertensión arterial, las patologías cardiovasculares y otras alteraciones derivadas de la relación entre el metabolismo de lípidos y el de la glucosa. Por tanto, la cepa CECT 7771 puede ser eficaz en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la absorción excesiva de grasas a partir de la dieta.

- La cepa *B. uniformis* CECT 7771 reduce la dislipemia y, en particular, las concentraciones de triglicéridos y colesterol en sangre periférica en sujetos obesos (Ejemplo 3; Tabla 2), lo que reduce el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. En parte este efecto puede deberse a la capacidad de la cepa para inhibir la cantidad de grasa absorbida a partir de la dieta.

La dislipemia también puede ser consecuencia no sólo de la grasa de la dieta absorbida sino de otras alteraciones del metabolismo como la resistencia a insulina de los adipocitos que, sin que esté necesariamente asociada a obesidad, hace que éstos liberen ácidos grasos que se utilizarán en el hígado para la síntesis de

triglicéridos y colesterol, y también podrán secretarse y aumentar su concentración en sangre periférica. La dislipemia también puede presentarse en sujetos predispuestos genéticamente a esta alteración metabólica, sin estar necesariamente asociada a la obesidad, a la resistencia a la insulina, o al aumento de la absorción de grasa de la dieta. Por tanto, la cepa CECT 7771 puede ser eficaz en la prevención y/o el tratamiento la dislipemia (e.g. hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia) y patologías relacionadas, como la hipertensión y las patologías cardiovasculares.

- La cepa *B. uniformis* CECT 7771 reduce la concentración sérica de glucosa en paralelo a la de insulina en ayunas y el índice de la resistencia a la insulina HOMA (Homeostasis Model Assessment), que permite realizar estimaciones de la resistencia a la insulina (un elevado índice indica baja sensibilidad a la insulina) y de la función de las células beta pancreáticas. Además, la cepa objeto de la invención reduce la respuesta glicémica postprandial tras una dosis oral de glucosa, lo que también indica que mejora el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina (Ejemplo 3, Tabla 2). La cepa objeto de la invención también reduce la concentración de la adipoquina leptina en sujetos obesos, indicando que mejora la función metabólica de esta adipoquina, que a su vez puede contribuir a mejorar el metabolismo de glucosa y la producción o sensibilidad a la insulina (Ejemplo 4, Tabla 3).

- El aumento de las concentraciones séricas de glucosa, debido al desarrollo de resistencia a insulina, está frecuentemente asociado al sobrepeso y la obesidad, aunque también puede producirse sin obesidad, y puede conducir al desarrollo de diabetes Mellitus tipo-2 y diabetes gestacional. Por tanto, la cepa CECT 7771 puede ser eficaz en la prevención y/o el tratamiento las alteraciones del metabolismo de glucosa relacionadas que pueden conducir al desarrollo de resistencia a insulina y finalmente diabetes.

- La cepa CECT 7771 es capaz de reducir la síntesis de proteínas pro-inflamatorias en tejidos periféricos, en sujetos normo-peso tratados con dicha cepa respecto a los no tratados con la misma. Así, la cepa objeto de la invención reduce la síntesis de la citoquina inflamatoria TNF- α y aumenta la síntesis de la citoquina anti-inflamatoria IL-10 en el tejido adiposo, mientras que en sujetos obesos no tratados con la cepa se produce una reducción de la concentración de esta citoquina. La síntesis de TNF- α está incrementada en la obesidad y otras patologías y contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina y la leptina, inhibiendo sus efectos anorexigénicos (reducción de la sensación de hambre) y su función en la regulación del peso corporal y el metabolismo de los lípidos y la glucosa (Ejemplo 4; Tabla 3). Además, la cepa objeto de la invención reduce la concentración de la citoquina inflamatoria TNF- α en el páncreas pudiendo mejorar la función de este órgano en la regulación del metabolismo de la glucosa (Ejemplo 4, Tabla 3). La cepa objeto de la invención también reduce la concentración de la adipoquina leptina, que también pueden favorecer la inflamación en el contexto del sobrepeso y la obesidad (Ejemplo 4, Tabla 3).

Por tanto, la cepa CECT 7771 regula la producción de citoquinas y adipoquinas, cuya síntesis está alterada en la obesidad y en determinadas enfermedades asociadas a la misma, como por ejemplo y sin limitar la dislipemia, el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina, la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares y la esteatosis, tanto en sangre periférica como en tejidos, y en otras enfermedades no necesariamente asociadas al sobrepeso y/o a la obesidad y, por tanto, se puede utilizar para el tratamiento y prevención de estas patologías.

- La cepa CECT 7771 mejora el funcionamiento de células del sistema inmunitario innato y adaptativo, incrementando su capacidad para responder a agentes infecciosos, antígenos o alérgenos en sujetos obesos y sin obesidad. En particular, la administración de la cepa a animales modelo de obesidad inducida por una dieta rica en grasa mejora, entre otras, la función de los macrófagos en la fagocitosis y en la síntesis de citoquinas ante estímulos de patógenos (Ejemplo 4, FIG. 5). La cepa objeto de la invención también mejora la función de las células dendríticas y células T del sistema inmune adaptativo (Ejemplo 4, FIG. 6).

Por tanto, la cepa CECT 7771 tiene un efecto positivo adicional porque puede ser útil para la prevención y el tratamiento de infecciones y la mejora de las respuestas protectoras por ejemplo en procesos de vacunación e inmunización, debido a que estas funciones del sistema inmunitario están alteradas en sujetos con sobrepeso y obesidad. Además, la cepa de la invención puede ser útil para el tratamiento o prevención de otras enfermedades que cursen con inmunodepresión (fundamentalmente de macrófagos, células dendríticas y células T), asociadas o no a la obesidad y el sobrepeso, ya que estos efectos se demuestran también en sujetos no obesos.

- La cepa CECT 7771 además restablece la composición de la microbiota intestinal, normalizando las alteraciones asociadas al sobrepeso y la obesidad (reducción de abundancia del grupo *C. coccoides*, del género *Bifidobacterium* y aumento de la familia *Enterobacteriaceae*) y atenuando el efecto inflamatorio que causan estas alteraciones, y que se ha relacionado con el aumento de peso, la resistencia a la insulina, la endotoxemia metabólica, la esteatosis hepática y la alteración de la función barrera intestinal (Ejemplo 4 y Tabla 4 y Ejemplo 3 y FIG. 7). La cepa de la invención también incrementa el número de *Bacteroides* spp. y *Bifidobacterium* spp. en sujetos normopeso y puede emplearse para restablecer estas poblaciones microbianas en el intestino, que puedan estar alteradas debido a otras condiciones distintas de la obesidad y el sobrepeso. Por tanto, la cepa

CECT 7771 tiene aplicación adicionalmente en la prevención y el tratamiento de enfermedades asociadas con alteraciones en la microbiota intestinal e infecciones por enterobacterias.

5 Un aspecto de la presente invención se refiere a una cepa de *B. uniformis* con número de depósito CECT 7771. Dicha cepa ha sido depositada en la colección española de cultivos tipo (CECT) el 21 de Julio de 2010 y le correspondió el nº de depósito CECT 7771 La dirección de dicha Autoridad Internacional de depósito es: Universidad de Valencia / Edificio de investigación / Campus de Burjassot / 46100 Burjassot (Valencia).

10 La clasificación científica de la cepa CECT 7771 de la presente invención es: Reino: Bacteria / Filo: Bacteroidetes / Orden: *Bacteroidales* / Familia: *Bacteroidaceae*/ Género: *Bacteroides* / Especie: *uniformis*.

Las características de dicha cepa son:

15 - Los sustratos que la cepa *B. uniformis* CECT 7771 oxida o fermenta son: lactosa, sacarosa, maltosa, salicina, xilosa, arabinosa, esculina, celobiosa, manosa y rafinosa.

- La cepa *B. uniformis* CECT 7771 crece en un intervalo de temperaturas comprendido entre 31 y 42 °C, con un óptimo a 37 °C.

20 Además, la cepa *B. uniformis* CECT 7771 es estable en las condiciones de estrés gastrointestinal (pH ácido y alta concentración de bilis). Su viabilidad tras su incubación en condiciones gástricas (pepsina 3g/l a pH 3 y 2.5) durante el tiempo medio de vaciado gástrico (2 h) es del 50-70% y tras su incubación en presencia de sales biliares (0.5 y 1%) se mantiene por encima del 90%. También es resistente a las condiciones de los procesos tecnológicos de conservación (congelación, liofilización, etc.), y a las condiciones de elaboración de alimentos (refrigeración, liofilización, fermentación, etc.). Todas estas propiedades garantizan su viabilidad y persistencia y efectividad en el intestino.

30 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una cepa derivada de la cepa *B. uniformis* CECT 7771, donde dicha cepa mantiene o mejora las capacidades descritas a lo largo de la presente invención. El microorganismo derivado puede producirse de forma natural o bien de forma intencionada, por métodos de mutagénesis conocidos en el estado de la técnica como por ejemplo pero sin limitarse, el crecimiento del microorganismo original en presencia de agentes mutagénicos o causantes de estrés, o mediante ingeniería genética dirigida a la modificación de genes específicos. Según una realización preferida, la cepa derivada de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 es un mutante genéticamente modificado. Los términos cepa mutante o cepa derivada pueden ser utilizados indistintamente.

35 La cepa *B. uniformis* CECT 7771 o cualquier mutante o derivado de la misma puede ser utilizada en cualquier forma que ejerza los efectos descritos, como por ejemplo, según una realización preferida de la presente invención, la cepa *B. uniformis* CECT 7771 está en forma de células viables (cultivables o no cultivables), o según otra realización preferida de la invención la cepa está en forma de células no viables (células "muertas" inactivadas por cualquier técnica conocida en el estado de la técnica como por ejemplo, pero sin limitarse, calor, congelación o radicación ultravioleta).

40 En adelante se podrá hacer referencia a cualquiera de las cepas bacterianas de la especie *B. uniformis* descritas anteriormente (la cepa *B. uniformis* CECT 7771 o cualquier cepa mutante o derivada de la misma) como la "cepa de la presente invención" o la "cepa de la invención".

50 Otro aspecto de la presente invención se refiere a los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas o cualquiera de sus combinaciones, obtenidos a partir de la cepa de la invención, o a partir de una combinación de microorganismos que comprenda al menos una cepa de la invención.

55 Entre los componentes celulares de la bacteria se podrían incluir los componentes de la pared celular (como por ejemplo pero sin limitarse, peptidoglicano), los ácidos nucleicos, los componentes de la membrana, u otros como proteínas, lípidos e hidratos de carbono y sus combinaciones, como lipoproteínas, glicolípidos o glicoproteínas. Los metabolitos incluyen cualquier molécula producida o modificada por la bacteria como consecuencia de su actividad metabólica durante su crecimiento, su uso en procesos tecnológicos (por ejemplo, pero sin limitarse, procesos de elaboración de alimentos o fármacos), durante el almacenamiento del producto o durante el tránsito gastrointestinal. Ejemplos de estos metabolitos son, pero sin limitarse, los ácidos orgánicos e inorgánicos, proteínas, péptidos, aminoácidos, enzimas, lípidos, hidratos de carbono, lipoproteínas, glicolípidos, glicoproteínas, vitaminas, sales, metales o ácidos nucleicos. Las moléculas secretadas incluyen cualquier molécula exportada o liberada al exterior por la bacteria durante su crecimiento, su uso en procesos tecnológicos (por ejemplo de elaboración de alimentos o fármacos), el almacenamiento del producto o el tránsito gastrointestinal. Ejemplos de estas moléculas son, pero sin limitarse, ácidos orgánicos e inorgánicos, proteínas, péptidos, aminoácidos, enzimas, lípidos, hidratos de carbono, lipoproteínas, glicolípidos, glicoproteínas, vitaminas, sales, metales o ácidos nucleicos.

65

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende la cepa de la invención; y/o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas de la cepa de la invención o cualquiera de sus combinaciones definidas anteriormente.

5 La composición, definida de forma general, es un conjunto de componentes que está formado al menos por la cepa de la invención en cualquier concentración; o al menos por los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas de la cepa de la invención o cualquiera de sus combinaciones; o por una combinación de los mismos.

10 Según la invención, la composición anterior además puede comprender al menos otro microorganismo adicional diferente a la cepa de la invención y/o sus componentes celulares, metabolitos o moléculas secretadas, o cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, pero sin limitarse, el microorganismo adicional que puede formar parte de dicha composición es seleccionado entre al menos uno de los siguientes grupos:

15 - al menos una cepa de otra especie del género *Bacteroides* o de la especie *B. uniformis*;

- al menos una bacteria láctica o bifidobacteria de origen intestinal, alimentario o ambiental. La bacteria láctica se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, una bacteria del género *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Pediococcus* o *Streptococcus*;

20 - al menos una cepa de otros grupos filogenéticos, géneros o especies de procariotas de origen intestinal, alimentario o ambiental, como por ejemplo pero sin limitarse a Archaea, Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia, Fusobacteria, Metanobacteria, Spirochaetes, Fibrobacteres, Deferribacteres, *Deinococcus*, *Thermus*, *Cianobacteria*, *Methanobrevibacterium*, *Peptostreptococcus*,
25 *Ruminococcus*, *Coprococcus*, *Subdoligranulum*, *Dorea*, *Bulleidia*, *Anaerofustis*, *Gemella*, *Roseburia*, *Catenibacterium*, *Dialister*, *Anaerotruncus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Eubacterium*, *Akkermansia*, *Bacillus*, *Butyrivibrio* o *Clostridium*;

30 - al menos una cepa de hongo o levadura como por ejemplo, pero sin limitarse, perteneciente al género *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor* o *Penicillium*.

Dicho microorganismo adicional puede ser una cepa de la misma especie o de diferente especie o grupo taxonómico de microorganismos del que le corresponde a la cepa de la invención. Las células que comprende la
35 composición pueden ser no viables o viables y estar en cualquier fase del estado de desarrollo o crecimiento (latente, exponencial, estacionaria, etc.), independientemente de la morfología que presente. Preferentemente, dicho microorganismo adicional comprende al menos una bacteria intestinal o una bacteria láctica.

Opcionalmente, la composición según cualquiera de las definidas anteriormente, puede además comprender al
40 menos un componente bioactivo (sustancia activa, principio activo o agente terapéutico), como son por ejemplo otros componentes de alimentos, productos vegetales y/o fármacos.

El término "componente bioactivo" hace referencia a un compuesto con actividad biológica en el ámbito de
45 aplicación de la patente que pueda mejorar o complementar la actividad de una cepa de la especie *B. uniformis* y, preferentemente, la de la cepa objeto de la invención CECT 7771, incluyendo ingredientes o componentes de los alimentos (por ejemplo y sin limitar: ácidos grasos poli-insaturados, ácido linoléico conjugado, prebióticos, fibra, goma Guar, glucomanano, quitosano, picolinato de cobre, calcio, etc.), plantas, extractos o componentes de plantas (por ejemplo y sin limitar polifenoles, efedrina o extractos de *Ephedra* spp., te verde [*Camellia sinensis*], naranja amarga [*Citrus aurantium*]) y fármacos (por ejemplo y sin limitar estatinas, orlistat, sibutramina,
50 liraglutido etc.)

En una realización preferida, la composición como se define anteriormente es una composición farmacéutica. La
55 composición farmacéutica es un conjunto de componentes que está formado al menos por la cepa de la invención en cualquier concentración; o al menos por los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas de la cepa de la invención o cualquiera de sus combinaciones, que tiene al menos una aplicación en la mejora del bienestar físico o fisiológico o psicológico de un sujeto, que implique una mejora del estado general de su salud o reducción del riesgo de enfermedad. Dicha composición farmacéutica puede ser un medicamento.

El término medicamento tiene un significado más limitado que el significado de "composición farmacéutica", tal
60 como se define en la presente invención, ya que el medicamento implica necesariamente un efecto preventivo o terapéutico. El medicamento al que se refiere la presente invención puede ser de uso humano o veterinario. El "medicamento de uso humano" es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones
65 fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico. El "medicamento de uso veterinario" es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente

5 como poseedora de propiedades curativas o preventivas con respecto a las enfermedades animales o que pueda administrarse al animal con el fin de restablecer, corregir o modificar sus funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico veterinario. También se considerarán “medicamentos veterinarios” las “premezclas para piensos medicamentosos” elaboradas para ser incorporadas a un pienso.

10 Además del requerimiento de la eficacia terapéutica donde dicha composición farmacéutica puede necesitar el uso de otros agentes terapéuticos, pueden existir razones fundamentales adicionales que obligan o recomiendan en gran medida el uso de una combinación de un compuesto de la invención y un componente bioactivo, donde a dicho componente bioactivo se le atribuye una actividad apropiada para constituir un medicamento. Dicho compuesto de la invención se refiere obviamente a alguna de las cepas de *Bacteroides uniformis* de la invención o a los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas o cualquiera de sus combinaciones, obtenidos a partir de una de las cepas de la invención.

15 En una realización preferida, la composición farmacéutica además comprende, al menos, un vehículo y/o un excipiente farmacéuticamente aceptables.

20 El término “excipiente” hace referencia a una sustancia que ayuda a la absorción de cualquiera de los componentes de la composición de la presente invención, estabiliza dichos componentes o ayuda a la preparación de la composición farmacéutica en el sentido de darle consistencia o aportar sabores que lo hagan más agradable. Así pues, los excipientes podrían tener la función de mantener los componentes unidos como por ejemplo almidones, azúcares o celulosas, función de endulzar, función de colorante, función de protección del medicamento como por ejemplo para aislarlo del aire y/o la humedad, función de relleno de una pastilla, cápsula o cualquier otra forma de presentación como por ejemplo el fosfato de calcio dibásico, función desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción en el intestino, sin excluir otro tipo de excipientes no mencionados en este párrafo. Por tanto, el término “excipiente” se define como aquella materia que, incluida en las formas galénicas, se añade a los principios activos o a sus asociaciones para posibilitar su preparación y estabilidad, modificar sus propiedades organolépticas o determinar las propiedades físico-químicas de la composición farmacéutica y su biodisponibilidad. El excipiente “farmacéuticamente aceptable” debe permitir la actividad de los compuestos de la composición farmacéutica, es decir, que sea compatible con dichos componentes.

35 La “forma galénica o forma farmacéutica” es la disposición a que se adaptan los principios activos y excipientes para constituir un medicamento. Se define por la combinación de la forma en la que la composición farmacéutica es presentada por el fabricante y la forma en la que es administrada.

40 El “vehículo” o portador, es preferiblemente una sustancia inerte. La función del vehículo es facilitar la incorporación de otros compuestos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma a la composición farmacéutica. Por tanto, el vehículo es una sustancia que se emplea en el medicamento para diluir cualquiera de los componentes de la composición farmacéutica de la presente invención hasta un volumen o peso determinado; o bien que aún sin diluir dichos componentes es capaz de permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma al medicamento. Cuando la forma de presentación es líquida, el vehículo farmacéuticamente aceptable es el diluyente.

45 Además, el excipiente y el vehículo deben ser farmacológicamente aceptables, es decir, que el excipiente y el vehículo esté permitido y evaluado de modo que no cause daño a los organismos a los que se administra.

50 En cada caso la forma de presentación de la composición farmacéutica y, por tanto, la del medicamento, se adaptará al tipo de administración utilizada, por ello, la composición de la presente invención se puede presentar bajo la forma de soluciones o cualquier otra forma de administración clínicamente permitida y en una cantidad terapéuticamente efectiva. La composición farmacéutica de la invención se puede formular en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como comprimido, cápsula, polvo, gránulo, ungüento, solución, supositorio, inyección, inhalante, gel, microesfera o aerosol. Según una realización aún más preferida de la presente invención, la composición farmacéutica se presenta en una forma adaptada a la administración oral.

55 La forma adaptada a la administración oral se refiere a un estado físico que pueda permitir su administración oral. Dicha forma adaptada a la administración oral se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, gotas, jarabe, tisana, elixir, suspensión, suspensión extemporánea, vial bebible, comprimido, cápsula, granulado, sello, píldora, tableta, pastilla, trocisco o liofilizado.

60 Otra posibilidad es que la composición farmacéutica se presente en una forma adaptada a la administración sublingual, nasal, intracatecal, bronquial, linfática, rectal, transdérmica, inhalada o parenteral. La cepa de la invención; los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas o cualquiera de sus combinaciones, obtenidos a partir de la cepa de la invención, o la composición de la invención; pueden ir asociados, por ejemplo, pero sin limitarse, con liposomas o micelas.

65

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a aquella cantidad del componente de la composición farmacéutica que cuando se administra a un mamífero, con preferencia un humano, es suficiente para producir la prevención y/o el tratamiento, tal como se define más adelante, de una enfermedad o condición patológica de interés en el mamífero, con preferencia un humano. Dicho componente de la composición farmacéutica se refiere a la cepa de la invención; o a los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas; o una combinación de los mismos, y que opcionalmente pueden estar comprendidos en dicha composición en combinación con un componente bioactivo adicional, y que contribuyen al efecto terapéutico de la composición farmacéutica. La cantidad terapéuticamente efectiva variará, por ejemplo, según la actividad de la cepa de la invención; del microorganismo adicional o microorganismos adicionales que comprenda la composición de la invención; de los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas o cualquiera de sus combinaciones, en cualquier forma de presentación; la cantidad terapéuticamente efectiva variará también según la estabilidad metabólica y duración de la acción del compuesto; la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo y la dieta del paciente; el modo y el tiempo de administración; la velocidad de excreción, la combinación de fármacos; la gravedad del trastorno o la condición patológica particular; y el sujeto que se somete a terapia, pero puede ser determinada por un especialista en la técnica según su propio conocimiento y esa descripción.

En otra realización preferida, la composición definida según la invención es una composición nutritiva.

En una realización más preferida, la composición nutritiva es seleccionada entre un alimento (que puede ser un alimento para fines nutricionales específicos o un alimento medicinal), un suplemento, un nutracéutico, un probiótico o un simbiótico.

El término “composición nutritiva” de la presente invención se refiere a aquel alimento que, con independencia de aportar nutrientes al sujeto que lo toma, afecta beneficiosamente a una o varias funciones del organismo, de manera que proporciona un mejor estado de salud y bienestar. Como consecuencia, dicha composición nutritiva puede estar destinada a la prevención y/o tratamiento de una enfermedad o a la reducir de los factores de riesgo de la enfermedad.

El término “suplemento”, sinónimo de cualquiera de los términos “suplemento dietético”, “suplemento nutricional”, “suplemento alimentario” o “suplemento alimenticio” es un componente o componentes destinados a complementar la alimentación, y puede ser un alimento. Algunos ejemplos de suplementos dietéticos son, pero sin limitarse, las vitaminas, los minerales, los productos botánicos, aminoácidos y componentes de los alimentos como las enzimas y los extractos glandulares. No se presentan como sustitutos de un alimento convencional ni como componente único de una comida o de la dieta alimenticia, sino como complemento de la dieta.

El término “nutracéutico” tal como se emplea en la presente invención se refiere a sustancias aisladas de un alimento y utilizadas de forma dosificada que tienen un efecto beneficioso sobre la salud. Dicho nutracéutico puede ser un suplemento.

El término “probiótico” tal como se emplea en la presente invención se refiere a microorganismos que cuando son suministrados en cantidades adecuadas ejercen efectos beneficiosos sobre la salud del organismo hospedador.

El término “simbiótico” tal como se emplea en la presente invención se refiere a aquellos alimentos que contienen una mezcla de prebióticos y probióticos. Por regla general contienen un componente prebiótico que favorece el crecimiento y/o actividad metabólica y en definitiva el efecto del probiótico con el que se combina, como por ejemplo y sin limitar puede ser la asociación de los fructooligosacáridos o galactooligosacáridos a una bacteria intestinal como por ejemplo una cepa de la especie *B. uniformis*.

Según una realización más preferida de la anterior, el alimento se selecciona de la lista que comprende: producto lácteo, producto vegetal, producto cárnico, aperitivo, chocolate, bebida o alimento infantil. El producto lácteo se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, producto derivado de leche fermentada (por ejemplo, pero sin limitar yogur o queso) o no fermentada (por ejemplo, pero sin limitar, helado, mantequilla, margarina, suero lácteo). El producto vegetal es, por ejemplo, pero sin limitarse, un cereal en cualquier forma de presentación, fermentado o no fermentado. La bebida puede ser, pero sin limitarse, cualquier zumo de frutas o leche no fermentada.

Otra realización más preferida de la presente invención se refiere a cualquiera de las composiciones descritas en la invención, donde dicha composición tiene una concentración de la cepa de entre 10^3 y 10^{14} unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo o mililitro de composición final. La concentración de la cepa es aquella concentración terapéuticamente efectiva o nutritivamente efectiva, según el caso. La composición nutritiva y la composición farmacéutica, pueden formularse, pero sin limitarse, en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como comprimido, cápsula, microcápsula, polvo, gránulo, ungüento, solución, pasta, supositorio, inyección, inhalante, gel, microesfera o aerosol.

En adelante se podrá hacer referencia a cualquiera de las composiciones, composición general, composición farmacéutica o composición nutritiva, definidas en párrafos anteriores por medio del término “composición de la presente invención” o “composición de la invención”.

5 Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la cepa de la invención; o del componente celular, metabolito, molécula secretada o de cualquiera de sus combinaciones, de la invención para la fabricación de una composición farmacéutica, de un medicamento o de una composición nutritiva.

10 Otro aspecto de la invención hace referencia a una cepa de la especie *Bacteroides uniformis* para distintos usos diferentes al tratamiento y/o prevención del sobrepeso o la obesidad. La presente invención demuestra como una cepa de la especie *Bacteroides uniformis* (como es la cepa *B. uniformis* CECT 7771) puede utilizarse para tratar y/o prevenir otras alteraciones del metabolismo de lípidos y glucosa, no necesariamente vinculadas al sobrepeso o la obesidad, tales como hipertrofia de adipocitos; esteatosis hepática o hígado graso; dislipemia (p. ej. hipertrigliceridemia y/o hipercolesterolemia), la hipertensión, las patologías cardiovasculares; la hiperglucemia; la resistencia a insulina y/o diabetes (p. ej. diabetes gestacional o diabetes Mellitus tipo 2); o el síndrome metabólico. Asimismo, se ha comprobado que dicha cepa de *Bacteroides uniformis* puede ser utilizada para mejorar la función del sistema inmunitario y, por ejemplo, reducir la inflamación en tejidos periféricos (adiposo y páncreas) que ocasiona las alteraciones metabólicas crónicas anteriormente descritas, así como para incrementar las defensas frente a infecciones y la respuesta a la vacunación. Además, la cepa de *Bacteroides uniformis* se puede utilizar para restablecer la composición de la microbiota intestinal y evitar las patologías relacionadas con su alteración, por ejemplo, reduciendo la concentración de enterobacterias en el contenido intestinal.

25 En una realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para reducir el tamaño de los adipocitos en un sujeto, y por tanto, también en el tratamiento y/o prevención de hipertrofia de adipocitos.

30 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para reducir la acumulación de grasa en hepatocitos, y por tanto, también en el tratamiento y/o prevención de esteatosis hepática o hígado graso.

35 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para reducir los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre, y por tanto, también en el tratamiento y/o prevención de dislipemia, más preferentemente de una dislipemia seleccionada entre hipertrigliceridemia y/o hipercolesterolemia.

40 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad cardiovascular.

45 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para reducir la concentración de glucosa en sangre, y por tanto puede ser usada en el tratamiento y/o prevención de hiperglucemia y/o una patología asociada a niveles mayores de la concentración de glucosa en sangre.

50 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa en el tratamiento y/o prevención de resistencia a insulina y/o diabetes, y más preferentemente la diabetes se selecciona entre diabetes gestacional o diabetes Mellitus tipo 2.

55 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa en el tratamiento y/o prevención de síndrome metabólico.

60 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa en el tratamiento y/o prevención de la hipertensión.

65 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para mejorar la función del sistema inmunitario de un sujeto, respecto de un control no tratado.

5 Entre las mejoras de la función del sistema inmunitario, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, puede reducir la inflamación en tejidos periféricos que es causa de las alteraciones crónicas del metabolismo objeto de la patente y, entre ellas, dislipemia, esteatosis hepática, hipertrofia de adipocitos, resistencia a insulina y diabetes, hipertensión, síndrome metabólico y patologías cardiovasculares. Asimismo, otra de las mejoras del sistema inmunitario que aporta una cepa de *Bacteroides uniformis* es su capacidad para estimular la respuestas de células inmunocompetentes (macrófagos, células dendríticas y linfocitos T) y, así, las defensas frente a patógenos y antígenos

10 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para reducir la inflamación de tejidos periféricos, preferentemente tejido adiposo y/o pancreático.

15 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa en el tratamiento y/o prevención de una infección y/o la mejora de la respuesta a la vacunación. En los ejemplos se demuestra como una cepa de *B. uniformis* mejora de la función del sistema inmunológico innata y adaptativa frente patógenos y antígenos, y por tanto mejora la respuesta frente a infecciones de un individuo al que se le administra.

20 En otra realización preferida de uso en medicina, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, se usa para restablecer la composición de la microbiota intestinal y, preferentemente, para reducir la concentración de potenciales patógenos como las enterobacterias en el contenido intestinal de un sujeto, respecto de un control no tratado.

25 Según la presente descripción, una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para su uso en el tratamiento y/o prevención de las distintas enfermedades o alteraciones metabólicas, para mejorar la función del sistema inmunitario o para reducir la concentración de enterobacterias, puede ser obviamente entendido como un método de tratamiento y/o prevención de dichas enfermedades o alteraciones, o un método para mejorar la función del sistema inmunitario, o un método para reducir la concentración de enterobacterias, que comprende la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de dicha cepa. Asimismo, la presente invención también protege el uso de dicha cepa; o de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o la combinación de los mismos, para la fabricación de una composición nutritiva, de una composición farmacéutica o de un medicamento, para el tratamiento y/o prevención de dichas enfermedades o alteraciones metabólicas, para mejorar la función del sistema inmunitario o para reducir la concentración de enterobacterias.

30 Otro aspecto de la invención se refiere a la cepa de la invención; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones de la invención; o la composición de la invención, para uso en medicina.

35 El término "tratamiento", tal como se entiende en la presente invención, se refiere a combatir los efectos causados por una enfermedad o condición patológica de interés en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano) que incluye:

- 40
- 45 (i) inhibir la enfermedad o condición patológica, es decir, detener su desarrollo;
 - 50 (ii) aliviar la enfermedad o la condición patológica, es decir, causar la regresión de la enfermedad o la condición patológica o su sintomatología;
 - 55 (iii) estabilizar la enfermedad o la condición patológica.

60 El término "prevención" tal como se entiende en la presente invención consiste en evitar la aparición de la enfermedad, es decir, evitar que se produzca la enfermedad o la condición patológica en un sujeto (preferiblemente mamífero, y más preferiblemente un humano), en particular, cuando dicho sujeto tiene predisposición por la condición patológica.

65 El término "sobrepeso" se refiere a una patología caracterizada porque el sujeto tiene un índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 25. El IMC es una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo. El IMC tiene la siguiente fórmula para su cálculo: Masa (Kg) / estatura² (m). El sobrepeso se caracteriza por un IMC de entre ≥ 25 a < 30 .

El término "obesidad" se refiere a una patología caracterizada porque el sujeto tiene un IMC es igual o mayor de 30. La obesidad se clasifica en diferentes niveles, considerando que sujetos con IMC > 40 padecen de obesidad mórbida. Otros parámetros utilizados para determinar si un individuo padece obesidad central son la circunferencia de cintura absoluta (el sujeto padece obesidad cuando es >102 cm en hombres [obesidad central] y >88 cm en mujeres) o el índice cintura-cadera (el sujeto padece obesidad cuando es >0,9 para hombres y >0,85 para mujeres). Una vía alternativa para determinar la obesidad es medir el porcentaje de grasa corporal (el sujeto padece obesidad cuando tiene aproximadamente >25% de grasa corporal en un hombre y aproximadamente >30% de grasa corporal en la mujer).

En un ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa en el tratamiento y/o la prevención del sobrepeso o la obesidad y, preferiblemente, cuando son causadas por la dieta. Tal como se demuestra en la presente invención, la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 a animales con obesidad inducida por la dieta produce un reducción de la ganancia de peso (Ejemplo 3, Tabla 2.). Globalmente, esto supone que la cepa puede ser usada para tratar o prevenir el sobrepeso o la obesidad.

Teniendo en cuenta que la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 produce un reducción de la ganancia de peso (Ejemplo 3, Tabla 2.), dicha cepa puede ser igualmente usada en aplicaciones cosméticas para reducir la ganancia de peso. De este modo, se entiende que una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención para reducir la ganancia de peso es equivalente además a un método para reducción la ganancia de peso (tanto con fines terapéuticos como con fines estéticos) que comprende la administración a un sujeto de dicha cepa, dichos componentes, metabolitos o moléculas secretadas, o dicha composición.

Otras alteraciones del metabolismo de lípidos y glucosa, en las que también puede estar afectado el sistema inmunitario, como por ejemplo pero sin limitarse; diabetes Mellitus tipo 2 y diabetes gestacional, la dislipemia (preferiblemente hiperlipidemia e hipercolesterolemia), las patologías cardiovasculares, la hipertensión, el hígado graso (preferiblemente hígado graso no alcohólico o esteatosis hepática, esteatohepatitis no alcohólica, cirrosis o hepatitis), el síndrome metabólico, el cáncer, las infecciones, etc. pueden presentarse tanto en sujetos con peso normal, como en sujetos con sobrepeso u obesidad.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para disminuir el crecimiento y la diferenciación del tejido adiposo en sujetos obesos o con sobrepeso, y en un estadio anterior al sobrepeso o a la obesidad y, por tanto, se refiere al uso en la prevención y/o tratamiento de la hipertrofia de los adipocitos. Tal como se demuestra en el ejemplo 3 y en la FIG. 3, la cepa objeto de la invención reduce el tamaño de los adipocitos, cuyo aumento (hipertrofia) en determinadas etapas de la vida (sobre todo en la infancia y adolescencia) favorece especialmente el desarrollo del sobrepeso y obesidad en la edad adulta y otras complicaciones asociadas como la resistencia a insulina. En particular, la administración de la cepa CECT 7771 a animales obesos da lugar a un aumento del número de adipocitos de pequeño tamaño (Ejemplo 3, FIG. 3).

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa en el tratamiento y/o prevención de la esteatosis hepática o hígado graso. Tal como se demuestra en la presente invención, la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 tanto a animales modelo de obesidad como a animales control (no obesos) produce un reducción del número de hepatocitos con alta acumulación de grasa (Ejemplo 3, FIG 2.). Globalmente, esto supone que la cepa de la invención reduce la acumulación de grasa en el hígado.

La presente invención también se refiere a la prevención y/o el tratamiento de patologías relacionadas con la agravación de la esteatosis hepática, como por ejemplo, pero sin limitarse la hepatitis no alcohólica, esteatohepatitis, fibrosis, cirrosis, enfermedad hepática terminal o carcinoma hepático. Una cepa de la especie *B. uniformis* o la cepa de la invención puede ser usada para éstas u otras patologías que cursan con acumulación de lípidos en el hígado e inflamación, que pueden estar asociadas a obesidad o sobrepeso o bien ser consecuencia de otros trastornos. Entre éstos, se incluyen por ejemplo pero sin limitarse; alteraciones nutricionales (por ejemplo pero sin limitarse malabsorción, malnutrición proteocalórica o nutrición parenteral); trastornos metabólicos hereditarios o no hereditarios (por ejemplo pero sin limitarse diabetes Mellitus tipo 2, abetalipoproteinemia, o deficiencia sistémica de carnitina); enfermedades causadas por la exposición a fármacos (por ejemplo pero sin limitarse a corticoides o ibuprofeno) o tóxicos (por ejemplo pero sin limitarse a alcohol); hepatitis crónica o aguda debida a infecciones; cirrosis; fibrosis; enfermedad hepática terminal; carcinoma hepático; o alteraciones de la hipófisis. En particular, la esteatosis afecta aproximadamente a un 50% de los pacientes con diabetes Mellitus tipo 2.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad causada por alteraciones en las concentraciones de lípidos en sangre (por ejemplo la dislipemia) y, preferentemente de triglicéridos y/o colesterol, por tanto se usa para normalizar su concentración en sangre. Preferiblemente, el medicamento o composición nutritiva se usan para el tratamiento de dislipemia (sinónimo de dislipidemia). Preferiblemente la dislipemia es hipertrigliceridemia y/o hipercolesterolemia. La dislipidemia es una condición patológica cuyo único elemento común es una alteración del metabolismo de los lípidos, con la consecuente alteración de las concentraciones de lípidos y lipoproteínas en la sangre. La dislipemia puede estar o no asociada a la obesidad y a la ingesta de dietas ricas en grasas y al aumento de su absorción. A su vez, estas alteraciones están relacionadas con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, hipertensión y diabetes, entre otras patologías. La cepa de la invención reduce la absorción de lípidos y los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre demostrando ser eficaz para las aplicaciones descritas, tal y como se demuestra en el Ejemplo 3, Tabla 2.

En otro ejemplo de uso en medicina, la cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones; o la composición de la invención, se usa para reducir la cantidad de lípidos absorbidos a partir de la dieta, respecto a un control no tratado. Tal como se muestra en el ejemplo 3, la cepa de la invención reduce el número de micelas de grasa que forman quilomicrones en los enterocitos intestinales, es decir, reduce la cantidad de grasa de la dieta que es absorbida en más de un 80% (Ejemplo 3; FIG. 4). Los quilomicrones son la forma en la que los lípidos de la dieta son empaquetados y transportados desde el intestino a la linfa y a la sangre para ser utilizados por los tejidos periféricos y, por este mecanismo la cepa administrada limitaría su absorción y acumulación en el organismo. La absorción de la grasa en la dieta, además de poder ser causa de sobrepeso y/u obesidad por provocar un incremento de su acumulación en el tejido adiposo, puede ser la causa de otras patologías sin que se llegue a provocar obesidad, como por ejemplo y sin que limite el alcance de la invención la aterosclerosis, que se caracteriza por un engrosamiento de la túnica íntima de una arteria con placas donde queda incrustada la grasa, y la dislipemia, caracterizada por alteraciones en las concentraciones en plasma de lípidos (triglicéridos y/o colesterol y lipoproteínas asociadas); patologías asociadas a mayor riesgo cardiovascular; u otras alteraciones derivadas de la relación del metabolismo de lípidos con el de la glucosa (por ejemplo pero sin limitarse a resistencia a insulina o diabetes).

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad cardiovascular. Las enfermedades cardiovasculares son aquellas que afectan al corazón y vasos sanguíneos incluyendo, aterosclerosis, aneurisma, angina, accidente cerebro vascular, enfermedad cerebro vasculares, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad de la arteria coronaria, infarto agudo de miocardio y enfermedad vascular periférica. La inflamación crónica y las alteraciones del metabolismo de lípidos (dislipemia) y glucosa frente a las cuales es efectiva una cepa de *Bacteroides uniformis* y, preferentemente, la cepa de la invención *B. uniformis* CECT 7771, como la dislipemia (hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia), la resistencia a la insulina y diabetes, el aumento de grasa corporal o hipertrofia de adipocitos, son factores de riesgo de patologías cardiovasculares y, por tanto, su tratamiento y prevención pueden evitar el desarrollo de este otro grupo de patologías.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad causada por niveles mayores de glucosa en sangre, respecto de un control, por tanto se usa para disminuir la concentración de glucosa en sangre (hiperglicemia), respecto de un sujeto no tratado. Esta reducción de la concentración de glucosa se produce de forma paralela a la reducción en la concentración de insulina y reducción del índice de resistencia a insulina lo que demuestra que mejora la sensibilidad a la insulina y, por tanto, se puede usar para tratar o prevenir alteraciones del metabolismo causadas por la resistencia a insulina y reducción de la producción de insulina.

El aumento de glucosa en sangre (hiperglicemia) se puede producir como consecuencia de la dieta y también por desarrollo de resistencia a insulina (sujetos que producen suficiente insulina pero el cuerpo no responde normalmente) o por falta de síntesis de insulina, con o sin obesidad, debido a otras alteraciones metabólicas o interacciones con fármacos. En el ejemplo 3 y tabla 2 de la presente invención se ofrece soporte experimental a esta realización preferida. El término "enfermedad causada por niveles mayores de glucosa en sangre" se refiere a una alteración de la salud causada por concentraciones de glucosa en sangre más elevadas que las que cabría esperarse de un individuo sano con valores normales de glucosa, es decir de aproximadamente entre 72 a 110 mg/dl sangre ó 4 – 7 mmol/l en ayunas, o de aproximadamente <180mg/dl (ó 10 mmol/l) si se mide una hora y media después de las comidas. Dichos valores son valores medios aproximados ya que debe tenerse en cuenta la variación experimentada y por condiciones propias de cada sujeto. La enfermedad causada o asociada a niveles mayores de glucosa en sangre se selecciona de la lista que comprende, pero sin limitarse, neuropatía (lesión de los nervios de las extremidades y/o de los órganos); retinopatía (lesión de la retina en los ojos); nefropatía (lesión del riñón que puede ocasionar insuficiencia renal); enfermedades cardiovasculares (infarto de miocardio); enfermedad cerebrovascular (por ejemplo, la trombosis cerebral).

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de la resistencia a insulina y/o diabetes (preferentemente diabetes gestacional o diabetes Mellitus tipo 2). Un ejemplo de uso más preferido se refiere a la prevención y/o tratamiento de diabetes gestacional o de diabetes Mellitus tipo 2, patología asociada al sobrepeso y/o a la obesidad, aunque no necesariamente.

La diabetes Mellitus tipo 2 se caracteriza por el déficit relativo de la producción y sensibilidad a la insulina en los tejidos y, por tanto, una deficiente utilización periférica de glucosa. La diabetes Mellitus tipo 2 representa un 80%-90% de todos los pacientes diabéticos. Se desarrolla a menudo en etapas adultas de la vida, y es muy frecuente su asociación con la obesidad. Varios fármacos y otras causas pueden, sin embargo, causar este tipo de diabetes. Por ejemplo, es muy frecuente la diabetes asociada a la toma prolongada de corticoides, frecuentemente asociada a la hemocromatosis no tratada, y la diabetes gestacional no siempre asociada a obesidad.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento del síndrome metabólico. Se denomina síndrome metabólico al conjunto de alteraciones metabólicas que conjuntamente aumentan el riesgo de diabetes y enfermedad cardiovascular, incluyendo la combinación de obesidad, dislipemia (e.g. trigliceridemia e hipocolesterolemia) e hiperglucemia. Tal y como se demuestra en ejemplos previos (Ejemplo 3, Tabla 2), la cepa de la invención es útil para la prevención y tratamiento simultáneo de estas alteraciones y, por tanto, del síndrome metabólico.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de la hipertensión. La hipertensión arterial se origina como consecuencia de cambios en el flujo sanguíneo debido a una disfunción de la capa interna de los vasos sanguíneos. Entre los factores que contribuyen a la hipertensión arterial se encuentran la obesidad, la resistencia a la insulina (la insulina no ejerce correctamente su efecto vasodilatador), y la dislipemia e inflamación crónica que favorecen la deposición de lípidos en las arterias e infiltración de células inflamatorias que causan vasoconstricción y finalmente placas de ateroma. Esta invención demuestra que un cepa de *Bacteroides uniformis* y preferentemente la cepa de la invención *B. uniformis* CECT7771 mejora todas estas alteraciones y, por tanto, podría contribuir a prevenir y tratar las causas de la hipertensión.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones de la invención; o una composición de la invención, se usa para la mejora de la función del sistema inmunitario y, en particular, para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad asociada a la inflamación, originada por una mayor producción de moléculas pro-inflamatorias y reducción de las anti-inflamatorias, respecto de un control. En el ejemplo 4 y tabla 3 se muestran datos experimentales a este respecto. Ejemplos de proteínas pro-inflamatorias, pero sin limitarse, son citoquinas y quimioquinas y adipoquinas. Preferiblemente las proteínas pro-inflamatorias se seleccionan de la lista que comprende, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-16, Proteína C reactiva, TNF-alfa o MCP1 y leptina, o cualquiera de sus combinaciones. Más preferiblemente las proteínas pro-inflamatorias se seleccionan de la lista que comprende TNF-alfa y leptina o cualquiera de sus combinaciones. Ejemplos de proteínas anti-inflamatorias que pueden reducir las pro-inflamatorias, pero sin limitarse, son la citoquina IL-10.

El término "enfermedad asociada con una mayor producción de proteínas pro-inflamatorias" se refiere a enfermedades que son causadas por al menos la producción de una proteína implicada en la inflamación (pro-inflamatorias) de diversos tipos de tejidos. Algunas de las enfermedades asociadas con una mayor producción de proteínas pro-inflamatorias son también asociadas al sobrepeso y/o a la obesidad como por ejemplo, pero sin limitarse la diabetes tipo-2, diabetes gestacional, síndrome metabólico, hígado graso, hepatitis no alcohólica, hipertensión, dislipemia, enfermedades cardiovasculares, esteatohepatitis, o cáncer. Otras enfermedades asociadas con una mayor producción de proteínas pro-inflamatorias no están asociadas al sobrepeso y/o a la obesidad o pueden presentarse en ausencia de obesidad como por ejemplo, pero sin limitarse las mencionadas anteriormente (por ejemplo, diabetes) y otras como la inflamación alérgica.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para reducir la inflamación de tejidos periféricos, preferentemente de tejido adiposo y/o pancreático.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de una enfermedad asociada a una disminución de la respuesta inmune innata y adaptativa, respecto a la de sujetos control.

El término “enfermedad asociada a la disminución de la respuesta inmune innata y adaptativa” se refiere a enfermedades o situaciones fisiológicas que se caracterizan por una inmunodepresión de la función del sistema inmune innato y adaptativo, lo que puede conducir a una mayor susceptibilidad a sufrir ciertas patologías como las infecciones. Esta enfermedad asociada a la disminución de la respuesta inmune innata y adaptativa es preferentemente el sobrepeso, la obesidad y los desórdenes asociados que conllevan una alteración de estas funciones inmunitarias. En el ejemplo 4 (FIG 5 y 6) se muestran datos experimentales a este respecto.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones de la invención; o una composición de la invención, se usa para la prevención y/o tratamiento de una infección o para mejorar la respuesta a la vacunación y, por tanto, el grado de protección del sujeto frente a ese antígeno.

En otro ejemplo de uso en medicina, una cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, de la invención; o una composición de la invención, se usa para restablecer la composición de la microbiota intestinal y, preferentemente, para reducir la concentración de potenciales patógenos como las enterobacterias en el contenido intestinal de un sujeto, respecto a un control no tratado. En un ejemplo aún más preferido, el restablecimiento de la composición de la microbiota intestinal, o la reducción de la concentración de enterobacterias en el contenido intestinal, se lleva a cabo en un sujeto con sobrepeso, obesidad o cualquier patología asociada con las mismas.

El restablecimiento de la microbiota intestinal se puede basar, por ejemplo y sin limitar, en el aumento de la abundancia del género *Bifidobacterium* y en la reducción de la abundancia de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, cuyas concentraciones están alteradas en la obesidad. Este hecho también implica una reducción del riesgo de infecciones por enterobacterias y una reducción de las señales pro-inflamatorias que pueden transmitirse desde el intestino a tejidos periféricos (por ejemplo el hígado) que pueden estar afectados en sujetos obesos o no obesos por diversas patologías. Tal como se demuestra en el ejemplo 4 y en la FIG 7, la administración de la cepa objeto de la invención reduce la capacidad de la microbiota (heces) de animales obesos para estimular la síntesis de la citoquina inflamatoria TNF- α en macrófagos y células dendríticas. El efecto inflamatorio que causan las alteraciones de la microbiota intestinal en sujetos obesos se ha relacionado con la resistencia a la insulina, la endotoxemia metabólica, la esteatosis hepática y la alteración de la función barrera intestinal, que podrían ser atenuados por la cepa de la invención. Además, la cepa de la invención también incrementa el número de *Bacteroides* spp. y *Bifidobacterium* spp en sujetos normopeso y puede emplearse para incrementar o restablecer estas poblaciones microbianas en el intestino, que puedan estar alteradas debido a otras condiciones distintas de la obesidad y el sobrepeso. Por tanto, la cepa CECT 7771 tiene aplicación adicionalmente en la prevención y el tratamiento de enfermedades asociadas con alteraciones en la composición de la microbiota intestinal.

Según la presente descripción, la cepa de la invención; o los componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones de la invención; o la composición de la invención para su uso en el tratamiento y/o prevención de las distintas enfermedades o alteraciones metabólicas, para mejorar la función del sistema inmunitario o para restablecer la composición de la microbiota intestinal o reducir la concentración de enterobacterias, puede ser obviamente entendido como un método de tratamiento y/o prevención de dichas enfermedades o alteraciones, o un método para mejorar la función del sistema inmunitario, o un método para restablecer la composición de la microbiota intestinal o un método para reducir la concentración de enterobacterias, que comprende la administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de dicha cepa; o de dichos componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones; o de dicha composición. Asimismo, la presente invención también cubre el uso de dicha cepa; o de dichos componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o cualquiera de sus combinaciones, para la fabricación de una composición nutritiva, de una composición farmacéutica o de un medicamento (como anteriormente descritos), para el tratamiento y/o prevención de dichas enfermedades o alteraciones metabólicas, para mejorar la función del sistema inmunitario o para restablecer la composición de la microbiota intestinal o reducir la concentración de enterobacterias.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para mejorar el aspecto corporal de un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto una cepa de la invención; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones de la invención; o una composición nutritiva de la invención, para reducir la ganancia de peso corporal o contribuir a la pérdida de peso, con una finalidad cosmética. En el ámbito de la presente invención, se entiende que el sujeto al que se le administra con fines cosméticos la cepa de la invención o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones de la invención; o la composición nutritiva de la invención, se refiere a un sujeto sano.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Las siguientes figuras y ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Descripción de las figuras

- 5 **FIG. 1. Efecto diferencial de cepas de distintas especies del género *Bacteroides* y de la especie *B. uniformis* en la acumulación de triglicéridos (A) y colesterol (B) en los hepatocitos y en la utilización de glucosa (C).**
Los resultados están expresados como medias y su desviación estándar. *Diferencias estadísticamente significativas con respecto a la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (equivalente a CAY1) mediante ANOVA y el test de Tukey ($p < 0.05$).
- 10 **FIG. 2. Efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, sobre el desarrollo de esteatosis (acumulación de lípidos en el hígado). Panel A: SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar y las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$). Paneles B-E. Se muestra el número de hepatocitos grasos en función del grado de acumulación de grasa en la célula de menor a mayor (0-3) en un corte histológico de tejido hepático teñido con eosina hematoxilina. Panel B: SD; Panel C: SD + *B. uniformis* CECT 7771; Panel D: HFD; Panel E: HFD+B. *uniformis* CECT 7771.
- 15 **FIG. 3. Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, sobre el desarrollo de los adipocitos, clasificados por intervalos de tamaño. Panel A: SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar y las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$). Paneles B-E. Se muestra el tamaño de los adipocitos en un corte histológico de tejido epididimal teñido con eosina hematoxilina. Panel B: SD; Panel C: SD + *B. uniformis* CECT 7771; Panel D: HFD; Panel E: HFD+B. *uniformis* CECT 7771.
- 20 **FIG. 4. Efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, sobre el número de micelas de grasa acumuladas en los enterocitos en cortes histológicos teñidos con eosina-hematoxilina. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar y las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).
- 25 **FIG. 5. Panel A. Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, sobre la función de macrófagos estimulados con lipopolisacárido (LPS) en la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10). Panel B. Muestra el efecto de la administración de la cepa en el estallido respiratorio de macrófagos implicados en la fagocitosis. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar; las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).
- 30 **FIG. 6. A. Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, en la función de células dendríticas estimuladas con lipopolisacárido (LPS) en la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10). B. Muestra el efecto de la administración de la cepa en la interacción de las células dendríticas con células T y su capacidad de proliferación. Los linfocitos T CD4+ (TL) fueron incubados con células dendríticas (DC) maduras de distintos grupos experimentales de ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos a los que se les administró la cepa (10^8 ufc/día) durante 7 semanas. La relación de células (TL/DC) en la mezcla fue 1:1, 1:2 y 1:4.**
SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771. Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar; las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).
- 35 **FIG. 7. A Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos y controles durante 7 semanas, sobre la capacidad de su microbiota intestinal (heces) para estimular la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10) en macrófagos (A) o células dendríticas (B) de ratones controles. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y
- 40 **FIG. 5. Panel A. Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, sobre la función de macrófagos estimulados con lipopolisacárido (LPS) en la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10). Panel B. Muestra el efecto de la administración de la cepa en el estallido respiratorio de macrófagos implicados en la fagocitosis. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar; las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).
- 45 **FIG. 6. A. Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, en la función de células dendríticas estimuladas con lipopolisacárido (LPS) en la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10). B. Muestra el efecto de la administración de la cepa en la interacción de las células dendríticas con células T y su capacidad de proliferación. Los linfocitos T CD4+ (TL) fueron incubados con células dendríticas (DC) maduras de distintos grupos experimentales de ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos a los que se les administró la cepa (10^8 ufc/día) durante 7 semanas. La relación de células (TL/DC) en la mezcla fue 1:1, 1:2 y 1:4.**
SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771. Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar; las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).
- 50 **FIG. 7. A Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos y controles durante 7 semanas, sobre la capacidad de su microbiota intestinal (heces) para estimular la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10) en macrófagos (A) o células dendríticas (B) de ratones controles. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y
- 55 **FIG. 6. A. Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (5×10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos durante 7 semanas, en la función de células dendríticas estimuladas con lipopolisacárido (LPS) en la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10). B. Muestra el efecto de la administración de la cepa en la interacción de las células dendríticas con células T y su capacidad de proliferación. Los linfocitos T CD4+ (TL) fueron incubados con células dendríticas (DC) maduras de distintos grupos experimentales de ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos a los que se les administró la cepa (10^8 ufc/día) durante 7 semanas. La relación de células (TL/DC) en la mezcla fue 1:1, 1:2 y 1:4.**
SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771. Los resultados están expresados como medias y desviaciones estándar; las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).
- 60 **FIG. 7. A Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos y controles durante 7 semanas, sobre la capacidad de su microbiota intestinal (heces) para estimular la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10) en macrófagos (A) o células dendríticas (B) de ratones controles. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y
- 65 **FIG. 7. A Muestra el efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 (10^8 ufc/día) a ratones C57BL/6 ($n=6$ /grupo) obesos y controles durante 7 semanas, sobre la capacidad de su microbiota intestinal (heces) para estimular la síntesis de citoquinas inflamatorias (TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10) en macrófagos (A) o células dendríticas (B) de ratones controles. SD, animales control con dieta estándar; SD+B, animales control con dieta estándar + *B. uniformis* CECT 7771; HFD, con dieta rica en grasa; HFD+B, con dieta rica en grasa + *B. uniformis* CECT 7771.**
Los resultados están expresados como medias y

desviaciones estándar. Las diferencias estadísticamente significativas se establecieron aplicando el test Mann-Whitney U ($p < 0.05$).

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores. Los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en este documento de patente sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención. Estos ejemplos se incluyen solamente con fines ilustrativos y no han de ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos no pretenden limitar el campo de aplicación de la misma.

EJEMPLO 1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LA CEPA *B. uniformis* CECT 7771.

Se procedió al aislamiento de cepas del género *Bacteroides* a partir de heces de lactantes sanos que no hubieran sido sometidos a tratamientos con antibióticos al menos durante el mes anterior a la toma de muestras. Las muestras se mantuvieron a 4° C y se analizaron sin que transcurrieran más de dos horas desde su recogida. Dos gramos de cada una de ellas se diluyeron en tampón fosfato 10 mM conteniendo una concentración de NaCl de 130 mM (PBS) y se homogeneizaron en un *stomacher Lab-Blender 400* (Seward Medical, Londres, UK), durante 3 minutos y se diluyeron en agua de peptona. Alícuotas de 0,1 ml de diversas diluciones decimales se inocularon en agar Schaedler (Scharlau, Barcelona, Spain) suplementado con kanamicina (100 mg/L), vancomicina (7,5 mg/L) y vitamina K (0,5mg/L), a 37°C en condiciones de anaerobiosis. Tras una incubación de 48 h a 37 °C en condiciones de anaerobiosis (*AnaeroGen*, *Oxoid*, UK) se seleccionaron colonias aisladas y se confirmó su morfología bajo tinción de Gram. La identidad de los aislados se confirmó por secuenciación del gen del ARN ribosómico 16S a partir de ADN total. El fragmento secuenciado se amplificó utilizando los cebadores 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3': SEQ ID NO: 2) y 1401r (5'-CGGTGTGTACAAGACCC-3': SEQ ID NO: 3) y se purificó utilizando el sistema comercial GFXTMPCR (Amersham, Bioscience, UK). Para la secuenciación se emplearon además los cebadores 530f (5'-GTGCCAGCAGCCGCGG-3': SEQ ID NO: 4) y U-968f (5'-AACGCGAAGAACCTTAC-3': SEQ ID NO: 5), de acuerdo con los procedimientos descritos por otros autores (Gerhard *et al.*, 2001. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 504-513; Satokari *et al.*, 2001. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 504-513; Favier *et al.*, 2002. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 219-22). La secuenciación se realizó utilizando un secuenciador automático de ADN ABI 3700 (*Applied Biosystem*, Foster City, CA).

La secuencia de 1,335 kb del gen del ARN ribosómico 16S de la cepa CECT 7771 es SEQ ID NO: 1. La búsqueda de secuencias más próximamente relacionadas se realizó en la base de datos GenBank utilizando el algoritmo BLAST (Altschul *et al.*, 1990. *J. Mol Biol.*, 215: 403-410).

De acuerdo con la comparación de SEQ ID NO: 1 con respecto a las secuencias más similares, se obtuvo una identidad de 99 % con respecto a otras cepas de la especie *B. uniformis* (nº de acceso del GeneBank AB050110.1). Estos resultados indican que la cepa de la presente invención puede pertenecer muy probablemente a dicha especie.

La cepa de la invención se tipó molecularmente mediante análisis por RAPDs utilizando el cebador M13 (5'-GAGGGTGGCGGTTCT-3': SEQ ID NO: 6) y de acuerdo con la metodología descrita con anterioridad (Antonie Van Leeuwenhoek. 2010; 98(1):85-92). Los perfiles de los fragmentos de ADN amplificados de forma aleatoria demostraron que la cepa objeto de la invención (*B. uniformis* CECT 7771) es diferente a otras cepas de la misma especie.

EJEMPLO 2. SELECCIÓN DE LA CEPA *B. uniformis* CECT 7771 EN FUNCIÓN DE SU CAPACIDAD PARA MODULAR *in vitro* LA RESPUESTA DE MACRÓFAGOS RELACIONADA CON LA INFLAMACIÓN CRÓNICA DE BAJO GRADO ASOCIADA A LA OBESIDAD Y EN FUNCIÓN DE LA CAPACIDAD PARA MODIFICAR LA ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS Y LA UTILIZACIÓN DE GLUCOSA POR HEPATOCITOS.

2.1. Evaluación del efecto de las cepas bacterianas en macrófagos

Cepas bacterianas y condiciones de cultivo. Se utilizaron las siguientes cepas del género *Bacteroides*: *B. uniformis* CAY1 (CECT 7771), *B. uniformis* CBD2, *B. distasonis* CAY3, *B. fragilis* SX3, *B. fivegoldi* SX2, *B. dorei* SS1, *B. ovatus* SV2, *B. thetaiotaomicron* SAC4 y *B. caccae* SV3. Las cepas se inocularon en 10 ml de caldo Brain Herat (BH; *Scharlau Chemie* S.A., Barcelona, España), conteniendo un 0,05% de cisteína (BH), al 1% con un cultivo de 24 h y se incubaron durante 22 h a 37°C en anaerobiosis. (*AnaeroGen*; *Oxoid*, *Basingstoke*, UK). Las células se recogieron por centrifugación (6,000 g, 15 minutos), se lavaron dos veces en PBS (10 mM fosfato de sodio, 130 mM cloruro de sodio, pH 7.4), y se re-suspendieron en PBS conteniendo un 20% de glicerol. Alícuotas de estas suspensiones se congelaron con nitrógeno líquido y se conservaron a -80°C. El número de células viables tras el ciclo de congelación-descongelación se determinó mediante recuento en placas de agar Schaedler Agar (Scharlau, Barcelona, Spain) suplementado con kanamicina (100 mg/L), vancomicina (7,5 mg/L) y vitamina K (0,5mg/L). La viabilidad fue superior al 90% en todos los casos. Cada alícuota se utilizó para un solo ensayo. A fin de evaluar los efectos de las bacterias muertas, algunas de las alícuotas se inactivaron por frío (3 ciclos de congelación a -20°C y descongelación) y por calor (30 minutos a 80°C). Los valores de pH de los sobrenadantes obtenidos se ajustaron a 7.2

con NaOH y se esterizaron por filtración (0.22- μ m tamaño de poro, *Millipore, Bedford, MA*) para eliminar la posible presencia de células viables. A fin de evaluar los efectos de metabolitos y otros compuestos secretados al medio de cultivo, alícuotas de los sobrenadantes libres de células se conservaron a -80°C hasta su uso. Igualmente se evaluó el efecto de la incorporación de prebióticos al medio de cultivo reemplazando parte de la glucosa del medio BH por inulina (Inulin L-Light and Co LTD, Colnbrook, Reino Unido), siendo sus concentraciones finales de 0,5 y 1,5 g litro, respectivamente. En estas condiciones, se obtuvieron las células y sobrenadantes de cada cepa y con ellos se realizaron los mismos ensayos de estimulación de macrófagos y hepatocitos.

Cultivo y estimulación de macrófagos. Células de la línea celular de macrófagos murinos Raw 264.7 se crecieron en medio *Dulbecco's modified Eagle* (DMEM, Sigma, USA), suplementado con un 10% de suero fetal bovino (Gibco, Barcelona, España), estreptomycin (100 μ g/ml, Sigma) y penicilina (100 U/ml, Sigma). Para realizar los experimentos de estimulación, las células se incubaron a una concentración de 10^5 por ml en placas de poliestireno de fondo plano de 24 pocillos (*Corning, Madrid, España*) a 37° C, al 5% de CO₂. Como estímulo se utilizaron suspensiones de bacterias vivas y muertas equivalentes 1×10^6 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml, y volúmenes de sobrenadantes de 30 μ l. Como control positivo se usó lipopolisacárido (LPS) purificado de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium (Sigma Chemical Co, Madrid, Spain) a una concentración de 1 μ g/ml. Como control negativo se ensayó la producción de citoquinas en células no estimuladas. Cada tipo de estímulo fue ensayado por triplicado en 2 experimentos independientes. Los sobrenadantes de los cultivos se recogieron por centrifugación, se fraccionaron y se almacenaron en alícuotas a -20°C hasta la detección de citoquinas y quimioquinas.

Determinación de citoquinas y quimioquinas. Las concentraciones de citoquinas (TNF- α e IL10) de los sobrenadantes de los cultivos de macrófagos se midieron mediante kits ELISA (*BD Biosciences, San Diego, CA*) de acuerdo con las instrucciones de la casa comercial.

TABLA 1. Ejemplo del efecto de la estimulación con células viables de diversas especies y cepas del género *Bacteroides* en la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias por macrófagos.

Cepas de <i>Bacteroides</i>	Concentración citoquinas		
	TNF- α (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	TNF- α / IL-10
DEMEN (control)	491,2 (112,1) ^a	97,2 (10,8) ^a	5,00 (0,60) ^{a,b}
LPS (1 mg/ml)	1425,4 (77,6) ^b	162,3 (37,6) ^a	9,04 (1,61) ^{b,a'}
<i>B. dorei</i> SS1	3765,5 (150,0) ^{b,a'}	215,8 (12,5) ^{b,b'}	17,53 (1,71) ^{b,b'}
<i>B. ovatus</i> SV2	4515,7 (211,3) ^{b,b'}	271,5 (8,1) ^{b,b'}	16,62 (0,28) ^{b,b'}
<i>B. distasonis</i> CAY3	4462,4 (173,9) ^{b,b'}	215,8 (9,7) ^{b,b'}	20,74 (1,74) ^{b,b'}
<u><i>B. uniformis</i> CECT 7771</u>	<u>2998,4 (50,4)^{b,a'}</u>	<u>341,3 (13,5)^{b,a'}</u>	<u>9,91 (3,86)^{b,a'}</u>
<i>B. uniformis</i> CBD2	2640,5 (80,2) ^{b,a'}	105,4 (10,5) ^{a,b'}	31,00 (16,55) ^{b,b'}
<i>B. thetaiotaomicron</i> SAC4	2931,2 (464,5) ^{b,a'}	109,2 (3,0) ^{a,b'}	26,95 (5,01) ^{b,b'}
<i>B. fragilis</i> SX3	6657,3 (278,3) ^{b,b'}	81,2(14,6) ^{a,a',b'}	219,17 (41,39) ^{b,b'}
<i>B. caccae</i> SV3	11622,0 (818,3) ^{b,b'}	171,7(12,9) ^{b,b'}	67,69 (0,32) ^{b,b'}
<i>B. finegoldii</i> SX2	6535,8(62,2) ^{b,b'}	83,5(17,4) ^{a,b'}	80,75 (16,07) ^{b,b'}

*Los resultados está expresados como medias y su desviación estándar (sd, valores entre paréntesis). Se establecieron diferencias estadísticamente significativas aplicando el test de Tukey a un valor de P<0.050. Distintas letras en una misma columna indican diferencias significativas entre las medias en relación a al valor del control (a-b) o al valor de las células estimuladas con *B. uniformis* CECT 7771 (a'-b'). Se han subrayado los datos correspondientes a la cepa de la invención.

La cepa objeto de la invención se seleccionó entre otras del mismo género por ser una de las que inducía más bajas concentraciones de moléculas pro-inflamatorias (TNF- α) implicadas en el estado de inflamación crónica asociado a la obesidad que provoca resistencia a la acción de la insulina y leptina (Tabla 1). La cepa de la invención también se seleccionó por inducir la síntesis de la concentración más alta de la citoquina anti-inflamatoria y reguladora IL-10 por macrófagos, que puede contribuir a reducir la inflamación en el contexto de la obesidad (Tabla 1). Otras cepas de la misma especie como *B. uniformis* CBD2 indujeron una proporción significativamente superior de la razón TNF- α /IL-10 que la cepa objeto de la patente (CECT 7771), indicando que el balance de citoquinas pro- y anti-inflamatorias inducido por esta última es más favorable que el inducido por el resto de cepas. Las propiedades inmunológicas de la bacteria seleccionada no son comunes a todas las bacterias intestinales del mismo género (*Bacteroides*) o especie (*B. uniformis*) y, por tanto, la hacen especialmente idónea para su aplicación en el tratamiento y prevención del sobrepeso, la obesidad y las alteraciones metabólicas, asociadas o no, y relacionadas con la inflamación.

2.2. Evaluación del efecto de las cepas bacterianas en hepatocitos

Cepas bacterianas y condiciones de cultivo. Se utilizaron las siguientes cepas del género *Bacteroides*: *B. uniformis* CAY1 (CECT 7771), *B. uniformis* CBD2, *B. distasonis* CAY3, *B. fragilis* SX3, *B. fivegoldi* SX2, *B. dorei* SS1 y *B. ovatus* SV2. Las cepas se crecieron en caldo BH, conteniendo un 0,05% de cisteína y las suspensiones celulares y los sobrenadantes de los cultivos se obtuvieron y conservaron hasta su utilización tal como se ha indicado anteriormente en el apartado 2.1.

Cultivo de células HepG2. Se utilizaron cultivos de células humanas derivadas de hígado pertenecientes a la línea celular HepG2, ampliamente utilizada como modelo hepático. Las células se cultivaron en DMEM suplementado con suero bovino fetal (10%, v/v) (SBF), penicilina (100 unidades/ml) y estreptomycin (100 µg/ml). Los cultivos se mantuvieron (37 °C) en una atmósfera humidificada con un 5% CO₂ con cambio de medio cada 48 h hasta llegar al 70-80% de la confluencia momento en que se utilizaron para los estudios. Previamente a su adición al cultivo celular se preparó una mezcla de ácido oleico (18:1ω9; Sigma-aldrich) (AO) y albúmina (BSA) (A2153, Sigma-Aldrich), en condiciones asépticas. Una alícuota (5 g) de BSA se disolvió en el medio modificado de Dulbecco (libre de proteínas) (DMEM), utilizado para el cultivo celular, temperado a 40 °C. Sobre esta disolución se adicionó, gota a gota y en constante agitación, el patrón de ácido oleico hasta una concentración final de 0.8 M. A partir de los cultivos en confluencia, para llevar a cabo y normalizar los resultados de los distintos estudios, las células se re-suspendieron en DMEM y se sembraron en placas multipocillo (x24) a densidad de 1 x 10⁵ células/pocillo. En estas condiciones las células se incubaron (37 °C/5% CO₂) durante 24 h. Transcurrido este periodo los cultivos se lavaron (x2) con una disolución salina tamponada (PBS) y se adicionó 1 mL de DMEM (no suplementado con SBF), con una concentración de 2 mM de la mezcla AO/BSA, en presencia o no de suspensiones celulares (10⁸ unidades formadoras de colonias/ml) de las distintas cepas bacterianas indicadas en el apartado anterior. Los cultivos se devolvieron al incubador durante 24h adicionales. En todos los estudios se incluyeron cultivos control incubados con DMEM (no suplementado con SBF) pero sin AO.

Efecto de diversas especies y cepas de *Bacteroides* en la acumulación de triglicéridos y colesterol en cultivos HepG2. La cuantificación de la concentración (nmol/L) total de triglicéridos (TG) y colesterol (COL) en cultivos HepG2 expuestos (24 h) a la mezcla AO/BSA (2 mM en DMEM), en presencia o no de las suspensiones celulares de las distintas cepas bacterianas descritas, se llevó a cabo utilizando kits enzimáticos comerciales (Triglicéridos y Colesterol líquido, Química Analítica Aplicada SA, España). La cuantificación de TG y COL se llevó a cabo en homogeneizados celulares obtenidos con una disolución (300 µL) de PBS (pH 7)/0.1% Triton-X100, utilizando el patrón proporcionado en el kit comercial correspondiente.

La cepa objeto de la invención se seleccionó entre otras del mismo género y de la misma especie por su capacidad para reducir la acumulación de triglicéridos y colesterol en los hepatocitos (FIG 1). La cepa *B. uniformis* CECT 7771 redujo la acumulación de triglicéridos en comparación con otras cepas de distintas especies como *B. dorei*, *B. fivegoldi*, *B. fragilis* y *B. ovatus* y de la misma especie como *B. uniformis* CBD2 (FIG 1A). La cepa *B. uniformis* CECT 7771 también redujo la acumulación de colesterol en comparación con otras cepas de distintas especies como *B. distasonis*, *B. dorei*, *B. fivegoldi*, *B. fragilis* y *B. ovatus* (FIG 1B).

Efecto de diversas especies y cepas de *Bacteroides* en la utilización de glucosa y resistencia a insulina

La evaluación de la influencia de las distintas cepas bacterianas en la resistencia a insulina inducida por el tratamiento con ácido oleico se llevó mediante la incubación (4h) de los cultivos HepG2, expuestos durante 24h a 2 mM de AO/BSA en DMEM, con una disolución de glucosa (100 µg/mL) suplementada con insulina (10 ng/mL) en presencia o ausencia de distintas suspensiones bacterianas. El potencial consumo de glucosa por las bacterias se consideró mediante la incubación de estos medios sin su adición al cultivo celular. La influencia de las suspensiones bacterianas en la resistencia a insulina se evaluó cuantificando el consumo de glucosa y concentración intracelular de ésta en los hepatocitos con un kit enzimático comercial (Glucosa líquida, Química Analítica Aplicada SA, España).

En la FIG 1C se observa que los hepatocitos expuestos a ácido oleico presentan una reducción de su capacidad para utilizar la glucosa incluso en presencia de insulina con respecto a los controles. Sin embargo, la cepa objeto de la invención (*B. uniformis* CECT 7771) mejoró la capacidad de los hepatocitos para utilizar la glucosa y, por tanto, su sensibilidad a la insulina en mayor grado que otras cepas del mismo género y especie por lo que se consideró la candidata ideal para las aplicaciones objeto de la patente.

EJEMPLO 3. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA CEPA *B. uniformis* CECT 7771 EN PARÁMETROS BIOMÉTRICOS Y BIOQUÍMICOS, ABSORCIÓN DE LÍPIDOS EN EL INTESTINO Y EN LA HISTOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO E HÍGADO.

3.1. Modelo animal de obesidad y toma de muestras.

Se utilizaron ratones C57BL-6 machos adultos (6–8 semanas; Harlan Laboratorios). Los animales se mantuvieron a temperatura controlada (23°C), con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h y en una atmósfera de un 40–50% de humedad relativa.

La obesidad se indujo mediante la alimentación de los ratones con una dieta rica en grasa (HFD) que proporcionó el 60% de la energía en forma de lípidos (60/Fat, Harlan Laboratories) a expensas de una reducción de hidratos de carbono, durante 7 semanas, mientras que a los no obesos se les administró una dieta convencional que proporcionó el 12.4% de la energía en forma de lípidos. Los ratones tuvieron acceso libre al agua y a la dieta. El peso se monitorizó semanalmente. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las normas del comité de ética animal.

Los animales se dividieron aleatoriamente en 4 grupos (n=6/grupo): (1) controles alimentados con una dieta convencional (SD), controles a los que se les administró la cepa objeto de la invención (SD+cepa), obesos al ser alimentados con una dieta rica en grasa (HFD) y obesos a los que se administró la cepa CECT 7771 (HFD+cepa). La cepa se administró a una dosis diaria de 5×10^8 ufc/día mediante sonda intragástrica por vía oral durante 7 semanas. La bacteria se administró en forma de composición nutritiva constituida por leche descremada al 10% suplementada con la bacteria a la concentración indicada de 5×10^8 ufc por cada 100 μ l de composición. A los grupos controles SD y obesos HFD se les administró la composición nutritiva sin la bacteria como placebo. Tras el tiempo de tratamiento, los animales fueron anestesiados y sacrificados por dislocación cervical y se tomaron muestras de tejido adiposo (epididimal) y hepático y de sangre por punción cardíaca para los análisis que se describen a continuación.

3.2. Efectos en el hígado y tejido adiposo.

Las muestras de tejido adiposo (epididimal) y hepático fueron lavadas con solución salina y fijadas en un tampón con un 10% de formalina, embebidas en parafina, cortadas en secciones de 4-5 μ m y teñidas con eosina hematoxilina. La severidad de la esteatosis (acumulación de lípidos en el hígado) se determinó analizando 10 campos de cada sección fijada con microscopio óptico de campo claro (Olympus), según la siguiente escala: grado 1 (sin esteatosis); grado 2, cuando la grasa de los hepatocitos ocupaba menos del 33% de la célula; grado 3, cuando la grasa de los hepatocitos ocupaba entre el 34-66% de la célula; grado 4, cuando la grasa de los hepatocitos ocupaba más del 66% de la célula. El tamaño de los adipocitos se midió mediante análisis de imagen con el uso del software *NIS Elements BR 2.3*, evaluando un mínimo de 100 células por cada grupo experimental y tipo de tejido.

Los resultados obtenidos indican que la cepa objeto de la invención reduce el tamaño de los adipocitos en el tejido epididimal cuyo aumento (hipertrofia) en determinadas etapas de la vida (infancia y adolescencia) favorece el desarrollo del sobrepeso y obesidad en la edad adulta y está asociado a un desequilibrio positivo entre la ingesta y el gasto energético (Macia *et al.*, 2006. *Genes Nutr.*, 1: 189-212). Por el contrario, la reducción en el tamaño de los adipocitos está relacionada con la reducción de la resistencia a insulina y de las concentraciones de glucosa (Varady *et al.*, 2009. *Metabolism* 58: 1096-101). En particular, la administración de la cepa CECT 7771 a animales obesos da lugar a un aumento de adipocitos de pequeño tamaño ($<2000 \mu\text{m}^2$), mientras que en los animales obesos a los que no se les ha administrado la cepa se produce un aumento de todos los adipocitos de gran tamaño (2000-7000 μm^2) y se reducen los de pequeño tamaño ($<2000 \mu\text{m}^2$) (Ejemplo 3, FIG. 3). Cortes histológicos de tejido adiposo también demuestran estos efectos.

El aumento del tamaño de los adipocitos también está relacionado con el aumento del aporte de ácidos grasos al hígado, que da lugar a esteatosis hepática y sus complicaciones, de modo que la cepa puede asimismo contribuir a evitar o mejorar estas alteraciones. Por tanto, la cepa *B. uniformis* CECT 7771 reduce el tamaño de los adipocitos, es decir, es útil para el tratamiento de alteraciones en el desarrollo de este tipo de células que conduce a su hipertrofia, que mantenida en el tiempo puede provocar sobrepeso y obesidad, así como otras patologías no necesariamente asociadas a la obesidad.

La cepa objeto de la invención reduce el acumulo de grasa en el hígado (esteatosis) asociado a la ingesta de dietas ricas en grasa, a la obesidad y a diversas patologías como la hepatitis no alcohólica (Musso *et al.*, 2010. *Hepatology* 52: 79-104). Concretamente, la cepa produce una disminución del número de hepatocitos de grado 2 y 3, con máximo contenido en grasa, y un aumento de los de grado 0 y 1 de menor contenido en grasa; sin embargo, en animales obesos a los que no se les administra la cepa, la proporción del tipo de hepatocitos es inversa, predominando los de máximo contenido en grasa. En animales controles, la administración de la cepa produce un aumento de hepatocitos de grado 0 (sin grasa) y reduce el número de los de grado 1 y 2. (Ejemplo 3, FIG 2). De este modo se demuestra que la administración de la cepa reduce la acumulación total de grasa en el hígado inducida o no por la dieta.

3.3. Efectos en parámetros biométricos y bioquímicos.

El peso corporal total se monitorizó semanalmente y se determinó la ganancia de peso final respecto al peso inicial. Además, se estimó el peso de tejido adiposo (epididimal y peri renal) por 100 g de peso corporal tras el sacrificio. Las concentraciones de glucosa, triglicéridos y colesterol se determinaron en muestras de suero obtenidas a partir de sangre periférica tras el sacrificio mediante métodos colorimétricos (Química Clínica Aplicada, SA, Amposta, España) y la de insulina por ELISA (*BD Bioscience, San Diego, CA, USA*). Además las concentraciones de colesterol y triglicéridos se determinaron en los lípidos extraídos del hígado tras el sacrificio con la misma metodología. A fin de evaluar la respuesta glicémica postprandial, a las 6 semanas de tratamiento y tras 4 horas de ayuno también se administró a los ratones una dosis oral de glucosa de 2 g/kg y se tomaron muestras de sangre a distintos tiempos (15, 30, 60, 90 and 120 min) con las que se determinó el curso de la concentración de glucosa utilizando tiras reactivas

(Glucosa strips; Ascensia Esysfill, Bayer, Tarrytown, NY; USA) y un glucómetro (Ascensia VIGOR, Bayer Tarrytown, NY; USA).

5 Como se muestra en la Tabla 2, la administración de la cepa de la patente *B. uniformis* CECT 7771 a animales obesos reduce su ganancia de peso significativamente tras 7 semanas de intervención, indicando que es efectiva para la prevención y tratamiento del sobrepeso y la obesidad.

10 Tal y como se muestra en la Tabla 2, la cepa de la invención administrada *in vivo* también regula el metabolismo de la glucosa reduciendo su concentración en sangre periférica en animales obesos; por ejemplo las concentraciones elevadas de glucosa en suero de 485,9 mg/dl detectadas en ratones obesos tienden a normalizarse mediante la administración de la cepa objeto de la invención, alcanzando valores significativamente menores de 233,5 mg/dl ($P=0,002$), de forma proporcional a la reducción de la concentración de insulina (1,593 versus 0,920 $\mu\text{g/l}$; $P=0,018$). El aumento de la concentración de glucosa en plasma es indicativo de una alteración en su metabolismo y en la síntesis o respuesta a la insulina y puede ser regulada positivamente por la cepa objeto de la invención, reduciendo el riesgo de desarrollar resistencia a la insulina y diabetes, y mejorando su tratamiento. Además, se determinó el índice HOMA (Homeostasis Model Assessment) que permite realizar estimaciones de la resistencia a la insulina (un elevado índice indica baja sensibilidad a la insulina) y de la función de las células beta pancreáticas. Este índice se estimó en base a las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno con la siguiente ecuación $\text{HOMA} = \text{Insulina } (\mu\text{g/l}) \times \text{Glucosa } (\text{mg/dl}) / 405$. En los sujetos obesos el índice HOMA fue de 1,911 mientras que en los obesos tratados con la cepa fue de 0,530, detectándose por tanto una reducción notable que indica el efecto positivo de la cepa en la mejora de la sensibilidad a la insulina. Además, la cepa objeto de la invención reduce la respuesta glicémica postprandial tras una dosis oral de glucosa, disminuyendo el área de glucosa bajo la curva en sujetos obesos, lo que también indica que mejora el metabolismo de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. Como se muestra en la Tabla 2, la cepa objeto de la invención también reduce la hiperleptinemia característica de la obesidad inducida por la dieta indicando una mejora de su función en la regulación del metabolismo de lípidos y glucosa.

30 **Tabla 2. Parámetros biométricos y metabólicos en ratones alimentados con una dieta rica en grasas o estándar, suplementada o no con la cepa *B. uniformis* CECT 7771.**

Parámetro	Grupos experimentales								Análisis estadístico		
	SD		HFD		SD+B		HFD+B		Valor P	ValorP	ValorP
	Media	sd	Media	sd	Media	sd	Media	sd	HFD vs SD	SD+B vs SD	HFD+B vs HFD
Parámetros biométricos											
Ganancia peso (%)	24,21	3,34	36,19	1,55	23,61	3,17	30,33	0,92	0,007*	0,890	0,005*
Tejido adiposo (g)/100g peso corporal	0,06	0,04	0,15	0,03	0,03	0,02	0,14	0,04	0,016*	0,150	0,423
Parámetros séricos											
Colesterol (mg/dl)	120,00	13,67	176,02	14,91	128,22	11,91	143,97	17,29	<0,001*	0,222	0,003*
Triglicéridos (mg/dl)	130,31	11,56	156,99	27,47	129,77	13,94	118,21	10,04	0,041*	0,937	0,004*
Glucosa (mg/dl)	219,81	26,41	485,92	140,63	372,41	13,50	233,52	30,62	0,001*	0,237	0,002*
Insulina ($\mu\text{g/l}$)	0,57	0,47	1,59	0,09	0,69	0,05	0,92	0,14	0,018*	0,892	0,018*
Leptina (ng/ml)	8,07	1,12	18,28	4,28	6,80	1,23	12,98	3,24	<0,001*	0,048*	0,014*
Lípidos hepáticos											
Colesterol (mg/g)	29,94	4,08	35,51	4,35	29,22	6,32	27,48	6,39	0,029*	0,801	0,024*
Triglicéridos (mg/g)	22,93	13,03	45,99	11,53	31,36	4,76	34,17	9,51	<0,001*	0,142	0,039*

*SD: grupo con dieta estándar (control) (n=6); SD+B: grupo con DS y suplementado oralmente con $5,0 \times 10^8$ CFU/día de *B. uniformis* CECT 7771 (n=6); HFD: grupo con dieta rica en grasas (n=6); HFD+B: grupo con HFD y suplementado oralmente con $5,0 \times 10^8$ CFU/día de *B. uniformis*, durante 7 semanas (n=6). Los parámetros bioquímicos se determinaron en plasma tras la intervención. ^aLa ganancia peso total se calculó a final de la intervención y se expresó en valor relativo respecto al peso inicial de cada ratón. ^bEl peso relativo de tejido adiposo, incluyendo el epididimal y peri-renal, por cada 100 g de peso corporal se calculó tras la intervención. Los valores de todos los parámetros están expresados en forma de medias y sus desviaciones estándar. *El análisis estadístico se realizó aplicando ANOVA y posteriormente el test Tukey para datos con distribución normal o el test Mann-Whitney *U* para aquellos sin distribución normal. Se establecieron diferencias significativas a un valor de $P < 0.050$.

La cepa de la invención administrada *in vivo* regula el metabolismo de los lípidos reduciendo en particular la concentración de triglicéridos y colesterol en sangre periférica en animales obesos. Así, las concentraciones elevadas de triglicéridos en suero detectadas en ratones obesos se reducen significativamente mediante la administración de la cepa objeto de la invención de 156,99 a 118,21 mg/dl ($P = 0,004$) suponiendo una reducción del 25%. Las concentraciones elevadas de colesterol sérico detectadas en ratones obesos también se reducen significativamente mediante la administración de la cepa objeto de la invención de 176,02 a 143,97 mg/dl ($P = 0,003$) suponiendo una reducción del 18%. Además, la cepa de la invención reduce significativamente la acumulación de colesterol y triglicéridos en el hígado que puede contribuir a la esteatosis hepática.

3.4. Efectos de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 en la absorción de lípidos de la dieta en el intestino.

Tras el sacrificio se tomaron muestras de tejido intestinal que fueron lavadas con solución salina y fijadas en un tampón con un 10% de formalina, embebidas en parafina, y cortadas en secciones de 4-5 μm , que fueron teñidas con eosina hematoxilina. El número de quilomicrones o micelas de grasa por enterocito se determinó contando 10 campos de cada sección fijada con el microscopio óptico de campo claro (Olympus), y se expresó en número de quilomicrones por enterocito.

Como puede observarse en la FIG. 4, la cepa de la invención reduce el número de micelas de grasa o quilomicrones que se forman en los enterocitos en más de un 50%. Estos resultados son coherentes con los de la Tabla 2, que demuestran que la cepa de la invención reduce la concentración de triglicéridos en sangre.

EJEMPLO 4. EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA CEPA *B. uniformis* CECT 7771 SOBRE LA FUNCIÓN DE CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNITARIO; SOBRE PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN TEJIDOS PERIFÉRICOS; Y SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y SUS PROPIEDADES INFLAMATORIAS.

4.1. Preparación de cultivos de la cepa objeto de la invención.

La cepa *B. uniformis* CECT 7771 se creció en caldo Brain Heart (*Scharlab*, SL- Barcelona, España) suplementado con un 0,05 % (p/v) de cisteína a 37 °C en anaerobiosis (*AnaeroGen*; *Oxoid*, *Basingstoke*, *UK*) durante 22 h. Las células se recogieron por centrifugación (6.000 g durante 15 minutos), se lavaron con solución salina fosfato (PBS, 10 mM fosfato sódico, 130 mM cloruro sódico, pH 7.4), y se re-suspendieron y administraron en forma de una composición nutritiva constituida por leche descremada al 10% y la cepa bacteriana a una concentración de 5×10^8 ufc de la cepa CECT 7771 por cada 100 μl de composición, de manera similar a la composición nutritiva descrita en el ejemplo 3. Alícuotas de estas suspensiones se congelaron con nitrógeno líquido y se conservaron a -80°C hasta su uso. La viabilidad de las bacterias se comprobó por recuento en placas de agar Schaedler Agar (*Scharlau*, Barcelona, España) suplementado con kanamicina (100 mg/L), vancomicina (7,5 mg/L) y vitamina K (0,5mg/L), tras 48 horas de incubación y fue aproximadamente del 90%. Cada alícuota se descongeló una sola vez.

4.2. Modelo animal de obesidad

Se utilizaron los mismos ratones descritos en el ejemplo 3 y los mismos grupos experimentales a dos de los cuales se les administró la cepa objeto de la invención en forma de composición nutritiva, siguiendo la misma pauta, y a los controles placebo (composición nutritiva sin la cepa). Tras el tiempo de tratamiento, los animales fueron anestesiados y sacrificados por dislocación cervical y se tomaron diversas muestras biológicas: tejidos adiposo y páncreas para determinar parámetros inmunológicos (citoquinas), heces para determinar el efecto en la composición de la microbiota y células inmunocompetentes (macrófagos, células dendríticas y células T) obtenidas como se describe a continuación, para evaluar el efecto de la intervención sobre las respuestas inmunológicas de estas células.

4.3. Evaluación del efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 en la función de macrófagos de ratones obesos y normopeso.

A fin de demostrar el efecto de la administración de la cepa CECT 7771 en la mejora de la respuesta de células del sistema inmunitario innato, se obtuvieron macrófagos de cada grupo experimental de ratones asépticamente inyectando por vía intraperitoneal la solución *Dulbecco's Modified Eagles Medium* (DMEM) (*Sigma*TM- *St. Louis*, *MO/USA*),

5 suplementada con un 10% de suero fetal bovino inactivado a 56°C durante 30 minutos (Gibco, Barcelona, España), 100 µg/ml de estreptomycin y 100 U/ml de penicilina (*Sigma Chemical Co.*). Los macrófagos obtenidos de cada grupo experimental de ratones se ajustaron a una concentración de 1×10^5 células/ml en medio DMEM y tras su incubación durante 1 h a 37 °C en una atmósfera de 5% CO₂, los pocillos se lavaron con DMEM sin suero para eliminar las células no adheridas. Las células adheridas se incubaron durante 24 h y, tras este período, se estimularon con 1 µg/ml de LPS de *Salmonella enterica serotipo* Typhimurium (*Sigma Chemical Co, Madrid, España*) para evaluar su respuesta a un componente bacteriano de potenciales patógenos. Además, células de ratones controles fueron estimuladas con heces (dilución 1/9 en PBS) de cada grupo experimental de ratones a fin de determinar su potencial inflamatorio. En paralelo se evaluaron macrófagos no estimulados a fin de conocer la producción basal de citoquinas. Tras la estimulación, se recogieron los sobrenadantes y en ellos se determinaron las concentraciones de las citoquinas: TNF-α y IL-10 por ELISA (*Ready SET Go! Kit, BD Bioscience, San Diego, CA, USA*).

15 Los resultados obtenidos indican que la cepa de la invención mejora el funcionamiento de células del sistema inmunitario innato, como los macrófagos, cuando se administra *in vivo* a sujetos normo-peso y obesos, incrementando su capacidad para responder a agentes infecciosos, antígenos o alérgenos. En particular, la administración de la cepa a animales modelo de obesidad inducida por una dieta rica en grasa mejora, entre otras, la función de los macrófagos en la fagocitosis y en la síntesis de citoquinas (FIG. 5). La administración de la cepa incrementa el estallido respiratorio de macrófagos peritoneales en respuesta a un estímulo o alérgeno extraño (patógeno), mejorando la capacidad fagocítica y por tanto las defensas inmunológicas en sujetos obesos y normo-peso (FIG. 5). Esta capacidad está disminuida significativamente en animal obesos respecto los controles no obesos (FIG. 5). Estudios precedentes también demuestran que el estallido respiratorio de células fagocíticas responsable de la eliminación de patógenos también está alterado en sujetos con diabetes (*Marhoffer et al., 1992. Diabetes Care, 15(2): 256-60*). Además, el ensayo con el cultivo de macrófagos peritoneales extraídos de animales obesos y controles y su estimulación *in vitro* con el lipopolisacárido (LPS) de un patógeno, demuestran que la administración de la cepa objeto de la invención mejora la síntesis de citoquinas responsables de detener una posible infección como el TNF-α en animales obesos (FIG. 5). Esta función de los macrófagos también está reducida como consecuencia de la obesidad inducida por la dieta.

30 4.4. Evaluación del efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 en la función de células dendríticas y células T de ratones obesos y normopeso.

35 A fin de demostrar el efecto de la administración de la cepa objeto de la invención en la capacidad de células dendríticas para estimular la respuesta de linfocitos T y, por tanto, la respuesta inmunitaria adaptativa, se determinó la capacidad de células dendríticas maduras para inducir la respuesta proliferativa de linfocitos T CD4+ en una reacción linfocitaria mixta. El ensayo se realizó comparando las respuestas de las células dendríticas extraídas de ratones obesos y controles a los que se les suministró o no la cepa objeto de la invención tal como se ha descrito anteriormente.

40 Las células dendríticas fueron generadas a partir de médula ósea de tibias y fémur de los ratones. Las tibias y fémures de cada ratón fueron extraídas y el tejido circundante fue eliminado asépticamente. Tras cortar los extremos, la médula ósea fue extraída haciéndola fluir con PBS, utilizando una jeringa y aguja de 0,45 mm de diámetro. Las células obtenidas fueron lavadas una vez con PBS y alícuotas de 10^6 células diluidas en RPMI, suplementado con antibióticos (penicilina 100 IU/ml y estreptomycin 100µg/ml), 10% SFB y 20 ng/ml de GM-CSF de ratón, fueron sembradas en botellas de 100 mm. Al tercer día, se adicionaron 10 ml de medio de cultivo y al séptimo día, el medio fue reemplazado por medio fresco. Al octavo día las células no adheridas fueron cosechadas mediante pipeteo suave. Las células fueron lavadas con PBS y re-suspendidas en medio de cultivo sin GM-CSF. Las células dendríticas se activaron adicionando LPS (100ng/ml) durante 24 h antes de realizar la reacción linfocitaria mixta. Las células dendríticas maduras fueron usadas para estimular linfocitos T CD4+. Los linfocitos T CD4+ fueron aislados de bazo de ratones C57BL/6 de 7-8 semanas de edad. Tras ser extirpados, los bazo fueron suspendidos en PBS con SFB y pasados a través de una maya de nylon, la suspensión celular obtenida fue lavada una vez y re-suspendida en un tampón de lisis durante 5 minutos. Después de dos lavados con PBS, las células T CD4+ fueron separadas inmunomagnéticamente por selección positiva con "microbeads" L3T4-CD4+ (*Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany*) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

55 Para realizar la reacción linfocitaria mixta, se distribuyeron alícuotas de células dendríticas en placas de 96 pocillos por triplicado para estimular, en cada caso, 1×10^5 linfocitos T CD4+ en las siguientes relaciones (linfocitos T CD4+ / células dendríticas): 1:1, 1:2, 1:4 en 100 µl de medio de cultivo y se incubaron a 37°C durante 72 h, en atmósfera con 5% de CO₂. Como controles se usaron células dendríticas y linfocitos T CD4+ con y sin ConA (5µg/ml; Sigma), utilizada como mitógeno. La proliferación de linfocitos se determinó con un kit ELISA (BrdU-colorimetric assay; Roche, Diagnostic, Germany) y se cuantificó midiendo la absorbancia a 440 nm.

60 En cultivos de células dendríticas de cada grupo experimental de ratones también se evaluó su capacidad para sintetizar citoquinas cuando se estimulaban con LPS, como ejemplo del estímulo de un patógeno, y en cultivos de células dendríticas de ratones controles se determinó el efecto potencialmente inflamatorio de las heces de cada grupo experimental de ratones midiendo la síntesis de citoquinas, tal como se ha indicado en el caso de los cultivos de macrófagos.

65 La cepa objeto de la invención también ha demostrado mejorar la función de las células dendríticas y células T cuando se administra *in vivo*. Las células dendríticas extraídas de ratones obesos a los que se ha administrado la cepa,

incubadas en presencia de células T en diversas proporciones (1:1, 1:2 y 1:4), incrementan su capacidad de proliferación y activación, propiedades que están disminuidas en los animales obesos a los que no se ha administrado la cepa (FIG. 6). El mejor funcionamiento de las células dendríticas en los animales obesos a los que se administró la cepa también se pone de manifiesto porque tras su estimulación con LPS *in vitro* son capaces de inducir mayor secreción de citoquinas implicadas en la respuesta a patógenos (por ejemplo TNF- α) (FIG. 6). La administración de la cepa objeto de la patente también incrementa la capacidad de las células dendríticas estimuladas con LPS para producir la citoquina anti-inflamatoria IL10, que ayuda a regular los procesos de inflamación evitando la inflamación crónica. Los efectos sobre células dendríticas descritos para la cepa objeto de la invención son también significativos en animales normopeso. Estas propiedades hacen a la cepa objeto de la patente idónea ya que la funcionalidad de células dendríticas y células T está alterada en la obesidad y enfermedades asociadas como la diabetes, no siempre asociadas a la obesidad. En particular las células dendríticas presentan alteraciones funcionales asociadas al aumento de peso, caracterizadas por una reducción de su capacidad para presentar antígenos y estimular las células T alogénicas (Macia *et al.*, 2006. *J Immunol.*, 177(9): 5997-6006; Verwaerde *et al.*, 2006. *Scand J Immunol.*, 64(5): 457-66). Las propiedades pro-inflamatorias de las células T *naive* ante un estímulo (mitógeno o antígeno) están incrementadas, pudiendo contribuir al estado inflamatorio crónico de bajo grado asociado a la obesidad; y, por el contrario, las células T previamente expuestas a antígenos presentan un defecto en la proliferación y secretan preferentemente citoquinas de tipo Th2. Todo ello explica la alta incidencia de infecciones en sujetos obesos y la falta de respuesta a vacunación y a infecciones mediada por células T de memoria (Karlsson *et al.*, 2010. *J Immunol.*, 184: 3127-33). La función de células T también es deficiente en diabéticos, mostrando reducida capacidad para proliferar en respuesta a un estímulo y para sintetizar IL2 (Chang y Shaio. 1995. *Diabetes Res Clin Pract.*, 28(2): 137-46).

4.5 Efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 en la inflamación de tejidos periféricos.

A fin de determinar el efecto de la cepa objeto de la patente en la inflamación en tejidos periféricos asociada a la obesidad y enfermedades relacionadas (por ejemplo la diabetes), se determinó la concentración de citoquinas en tejido adiposo y páncreas, tras su homogeneización con un politrón, por ELISA. La obesidad incrementa la concentración de TNF- α y reduce la de IL-10 en tejido adiposo. Sin embargo, en sujetos obesos la cepa objeto de la patente reduce la concentración de TNF- α y aumenta la síntesis de la citoquina anti-inflamatoria IL-10 en el tejido adiposo, reduciendo la inflamación. La síntesis de TNF- α está incrementada en la obesidad y otras patologías y contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina y a la leptina en los tejidos, inhibiendo sus efectos anorexigénicos (reducción de la sensación de hambre) y su función en la regulación del peso corporal y el metabolismo de los lípidos y la glucosa (Ejemplo 4; Tabla 3). Además, en sujetos obesos la cepa objeto de la patente reduce la concentración de TNF- α en el páncreas lo que puede mejorar la función de este órgano en la regulación del metabolismo de glucosa (Ejemplo 4, Tabla 3).

TABLA 3. Concentración de citoquinas en tejido adiposo y páncreas de ratones alimentados con una dieta rica en grasa o estándar, suplementada o no con la cepa *B. uniformis* CECT 7771.

Tejido	*Grupos experimentales			**Test de la t de Student	
	SD	HFD	HFD+B	Valor-P SD vs HFD	Valor P HFD vs HFD+B
	Concentración de citoquinas (Media \pm sd pg/ml)				
Adiposo					
TNF- α	1098,1 \pm 208,5	3075,7 \pm 282,8	1628,6 \pm 407,8	<0,001	0,001
IL-10	32089,5 \pm 2936,5	6578,8 \pm 890,3	11178,0 \pm 1013,5	<0,001	0,005
Páncreas					
TNF- α	8698,7 \pm 822,5	10693,6 \pm 1481,1	2780,3 \pm 360,6	0,260	0,001
IL-10	21894,9 \pm 1952,3	11131,7 \pm 2704,3	10037,9 \pm 759,8	0,005	0,700

*SD: grupo con dieta estándar (control) (n=6); HFD: grupo con dieta rica en grasas (n=6); HFD+B: grupo con HFD y suplementado oralmente con 5,0 x10⁸ CFU/día de *B uniformis* CECT 7771, durante 7 semanas (n=6). La concentración de citoquinas en los distintos tejidos se determinó tras el sacrificio por ELISA.

**Diferencias significativas establecidas mediante ANOVA y el test de la t de Student para comparaciones entre dos medias a un valor de P<0.050.

4.6. Evaluación del efecto de la administración de la cepa *B. uniformis* CECT 7771 en la composición de la microbiota intestinal y sus propiedades inflamatorias.

Para evaluar el efecto de la cepa CECT 7771 en la composición de la microbiota se tomaron muestras de heces al final de la intervención a partir de los distintos grupos experimentales de ratones, se realizó una dilución 1:10 (w/v) en PBS (pH 7.2) y, tras homogeneizar, se extrajo el ADN por medio del sistema comercial QIAamp DNA

stool Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany). La cuantificación de la concentración de cada grupo bacteriano se realizó por PCR a tiempo real utilizando el equipo ABI PRISM 7000-PCR sequence detection system (Applied Biosystems, UK). La mezcla de reacción se compuso de 25 μ L de SYBR® Green PCR Master Mix (SuperArray Bioscience Corporation, USA), 1 μ L de cada primer a una concentración de 0.25 μ M y 1 μ L de DNA. Las concentraciones de cada grupo bacteriano se determinaron utilizando los valores Ct obtenidos para cada caso problema. Las curvas estándar se construyeron con diluciones de plásmidos en los que se había clonado el fragmento amplificado por las PCR específicas de cada grupo bacteriano. Los resultados se expresaron en nº de copias del gen del 16S rRNA por gramo de heces.

Los resultados demuestran que la cepa *B. uniformis* CECT 7771 restablece parcialmente la composición de la microbiota intestinal, normalizando las alteraciones asociadas al sobrepeso y/o la obesidad y el efecto inflamatorio que causan estas alteraciones (FIG 7), así como las alteraciones asociadas a otras condiciones patológicas no asociadas únicamente al sobrepeso y/o la obesidad. La administración de la cepa de la invención a un modelo de obesidad aumenta el número de *Bacteroides* spp. y del grupo *C. coccoides* y reduce el de *Bifidobacterium* spp. Estos cambios en la composición de la microbiota se traducen adicionalmente en una reducción de las propiedades pro-inflamatorias de la misma. Tanto en macrófagos como en células dendríticas, la microbiota de los animales obesos a los que se les administra la cepa induce menor síntesis de la citoquinas pro-inflamatorias, como el TNF- α , que la de los animales obesos a los que no se les administra la cepa (Ejemplo 4; FIG. 7). Las alteraciones de la microbiota intestinal se consideran uno de los posibles estímulos inflamatorios causantes de aumento de peso, resistencia a insulina, obesidad y diabetes (Cani y Delzenne 2009. *Curr Opin Pharmacol.*, 9(6): 737-43), además, dichas alteraciones causan otro tipo de condiciones patológicas. La cepa CECT 7771 también induce cambios en la microbiota de animales delgados aumentando por ejemplo la concentración de *Bifidobacterium* spp., y reduciendo su capacidad para inducir TNF- α en macrófagos y por tanto provocar inflamación.

TABLA 4. Ejemplo del efecto de la administración de la cepa CECT 7771 en la composición de la microbiota intestinal de animales obesos y normopeso.

Grupo bacteriano	*Grupos experimentales						
	SD	HFD	SD+B	HFD+B	SD	HFD	SD+B
	^a Mediana (IQR)	^a Mediana (IQR)	Valor-p ^b	^a Mediana (IQR)	Valor-p ^c	^a Mediana (IQR)	Valor-p ^d
Bacterias totales	10,8 (10,6 – 11,1)	10,5 (10,3– 10,8)	0,092	11,4 (11,3 – 11,6)	0,010*	11,0 (10,7 – 11,2)	0,629
<i>Lactobacillus</i> grupo	9,9 (9,4 – 10,5)	9,4 (9,2 – 9,5)	0,040*	9,6 (9,3 –9,8)	0,470	9,7 (9,5 – 10,1)	0,936
<i>Bacteroides</i> spp.	8,4 (8,3 – 8,6)	8,7 (8,3 – 9,0)	0,674	9,3 (9,1 – 9,5)	0,004*	9,0 (8,8 – 9,3)	0,016*
<i>Bifidobacterium</i> spp.	7,1 (6,8 – 7,2)	6,0 (5,9 – 6,3)	0,004*	8,1 (7,9 – 8,3)	0,013*	7,5 (7,0 – 7,7)	0,004*
<i>C. leptum</i> grupo	8,4 (8,3 – 8,6)	7,6 (7,5 – 7,7)	0,004*	9,6 (9,4 – 9,8)	0,004*	8,5 (8,1 – 8,7)	0,936
<i>C. coccoides</i> grupo	9,1 (8,6 – 9,3)	8,4 (8,2 – 8,5)	0,016*	9,9 (9,4 – 10,0)	0,054	9,6 (9,4 – 9,7)	0,036*
<i>Enterobacteriaceae</i>	7,3 (7,2 – 7,7)	8,1 (7,8 – 8,2)	0,019*	8,1 (7,6 – 8,2)	0,052	7,9 (7,5 – 8,0)	0,029*

*SD: grupo con dieta estándar y placebo (control) (n=6); SD+B: grupo con dieta estándar y una dosis diaria de $5,0 \times 10^8$ UFC/día *B. uniformis* CECT 7771 (n=6); HFD: grupo con dieta rica en grasas y placebo (n=6); HFD+B: grupo con dieta rica en grasas y una dosis diaria de $5,0 \times 10^8$ UFC/día *B. uniformis* CECT 7771 (n=6). El tratamiento se mantuvo durante 7 semanas y el placebo o la bacteria se administraron diariamente con sonda. ^aLos resultados están expresados como la mediana (rango intercuartil) del número de copias del gen del ARNr 16S amplificado con cebadores específicos de cada grupo bacteriano por gramo de heces. ^bDiferencias significativas entre los grupos SD y HFD. ^cDiferencias significativas entre los grupos SD y SD+B. ^dDiferencias significativas entre los grupos HFD y HFD+B.* Se han establecido diferencias significativas a valores $P < 0.050$, aplicando el test de Mann-Whitney U

REIVINDICACIONES

1. Cepa de *Bacteroides uniformis* con número de depósito CECT 7771.
- 5 2. Cepa derivada de la cepa según la reivindicación 1.
3. Cepa derivada según la reivindicación 2, donde dicha cepa es un mutante genéticamente modificado.
4. Cepa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicha cepa está en forma de células viables o en forma de células no viables.
- 10 5. Componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones, obtenible a partir de la cepa según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
- 15 6. Composición que comprende la cepa según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones, según la reivindicación 5; o cualquier combinación de los mismos.
- 20 7. Composición según la reivindicación 6, donde además comprende al menos un microorganismo adicional y/o sus componentes celulares, metabolitos o moléculas secretadas, o cualquier combinación de los mismos.
8. Composición según la reivindicación 7, donde el microorganismo adicional es una bacteria intestinal o una bacteria láctica.
- 25 9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, donde además comprende al menos un componente bioactivo.
10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, donde dicha composición es una composición farmacéutica.
- 30 11. Composición según la reivindicación 10, donde además comprende, al menos, un vehículo y/o un excipiente farmacéuticamente aceptables.
- 35 12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 11, donde dicha composición se presenta en una forma adaptada a la administración oral, sublingual, nasal, intracatecal, bronquial, linfática, rectal, transdérmica, inhalada o parenteral.
- 40 13. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, donde dicha composición es una composición nutritiva.
- 45 14. Composición según la reivindicación 13, donde dicha composición se selecciona entre un alimento, un suplemento, un nutracéutico, un probiótico o un simbiótico.
- 50 15. Composición según la reivindicación 14, donde dicho alimento se selecciona de la lista que comprende: producto lácteo, producto vegetal, producto cárnico, aperitivo, chocolate, bebida o alimento infantil.
16. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 15, donde dicha composición tiene una concentración de la cepa de entre 10^3 y 10^{14} unidades formadoras de colonias (ufc) por gramo o mililitro de composición final.
- 55 17. Uso de la cepa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; o del componente celular, metabolito, molécula secretada o de cualquiera de sus combinaciones, según la reivindicación 5, para la fabricación de una composición farmacéutica, de un medicamento o de una composición nutritiva.
- 60 18. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de hipertrofia de adipocitos.
19. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de esteatosis hepática o hígado graso.
- 65 20. Una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para su uso en el tratamiento y/o prevención de dislipemia.

21. La cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas o una combinación de los mismos; o la composición, según la reivindicación 20, donde la dislipemia es una hipertrigliceridemia, una hipercolesterolemia o una combinación de las mismas.
- 5 22. Una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad cardiovascular.
- 10 23. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de hiperglucemia.
- 15 24. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de resistencia a insulina y/o diabetes.
- 20 25. Uso de la cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas o una combinación de los mismos; o la composición, según la reivindicación 24, donde la diabetes es diabetes Mellitus tipo 2 o diabetes gestacional.
- 25 26. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de síndrome metabólico.
- 30 27. Una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para su uso en el tratamiento y/o prevención de hipertensión.
- 35 28. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para mejorar la función del sistema inmunitario de un sujeto, respecto de un control no tratado.
- 40 29. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para reducir la inflamación de tejidos periféricos.
- 45 30. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de una infección.
- 50 31. Uso de una cepa de *Bacteroides uniformis*; o uno de sus componentes celulares, metabolitos, moléculas secretadas, o una combinación de los mismos; o una composición que comprenda alguno de los anteriores, para la fabricación de un medicamento para restablecer la composición de la microbiota intestinal y reducir la concentración de potenciales patógenos.
- 55 32. Uso de la cepa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o de cualquiera de sus combinaciones, según la reivindicación 5; o la composición según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 16, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad o alteración metabólica.
- 60 33. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de sobrepeso u obesidad.
- 65 34. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de hipertrofia de adipocitos.
35. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición; según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de esteatosis hepática o hígado graso.
36. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de dislipemia.

- 5 37. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 36, donde la dislipemia es una hipertrigliceridemia, una hipercolesterolemia o una combinación de las mismas.
38. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición; según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad cardiovascular.
- 10 39. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de hiperglucemia y/o una enfermedad asociada.
- 15 40. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de resistencia a insulina y/o diabetes.
- 20 41. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 40, donde la diabetes es diabetes Mellitus tipo 2 o diabetes gestacional.
- 25 42. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de síndrome metabólico.
- 30 43. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de hipertensión.
- 35 44. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para mejorar la función del sistema inmunitario de un sujeto, respecto de un control no tratado.
- 40 45. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para reducir la inflamación de tejidos periféricos.
- 45 46. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de una infección.
47. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 32, para la fabricación de un medicamento para restablecer la composición de la microbiota intestinal y reducir la concentración de potenciales patógenos en un sujeto, respecto de un control no tratado.
- 50 48. Uso de la cepa; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o cualquiera de sus combinaciones; o la composición, según la reivindicación 47, donde el sujeto es un sujeto con sobrepeso o un sujeto con obesidad.
- 55 49. Un método para mejorar el aspecto corporal de un sujeto que comprende administrar a dicho sujeto la cepa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; o el componente celular, metabolito, molécula secretada o de cualquiera de sus combinaciones, según la reivindicación 5; o una composición nutritiva según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, para reducir la ganancia de peso corporal o provocar la pérdida de peso con finalidad cosmética.

FIGURA 1.

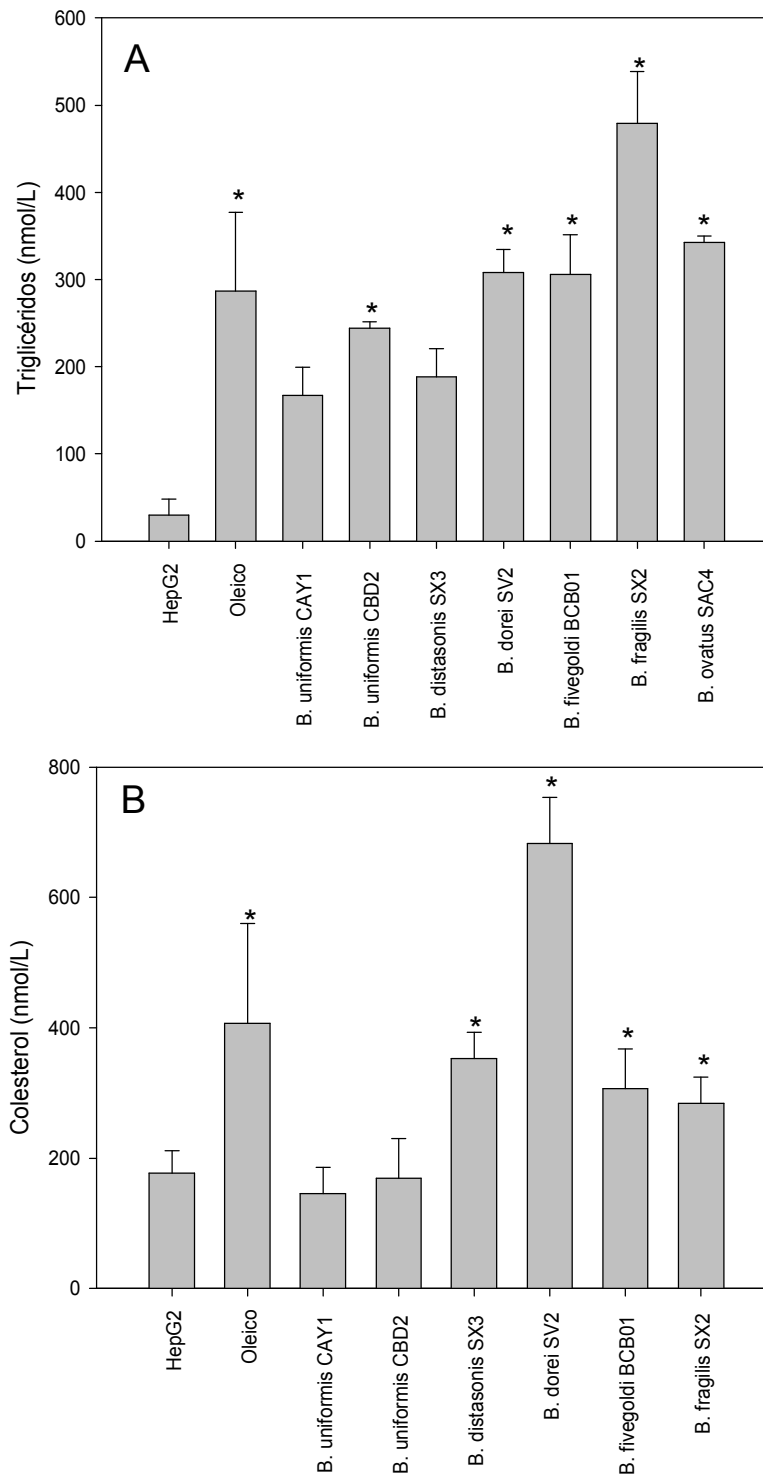


FIGURA 1 (Cont.).

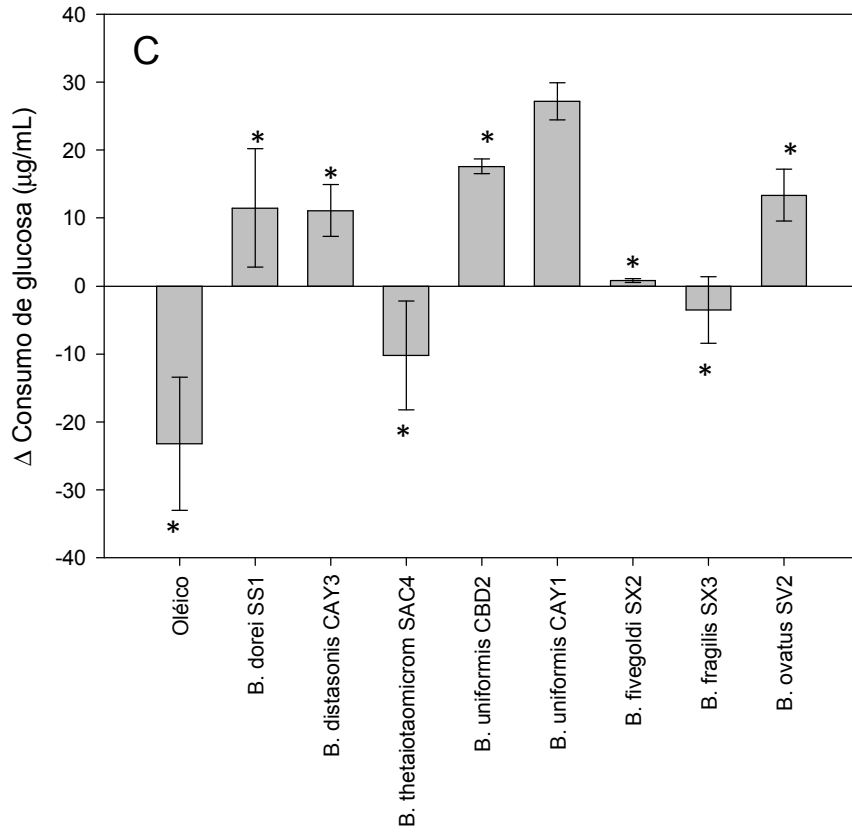


FIGURA 2.

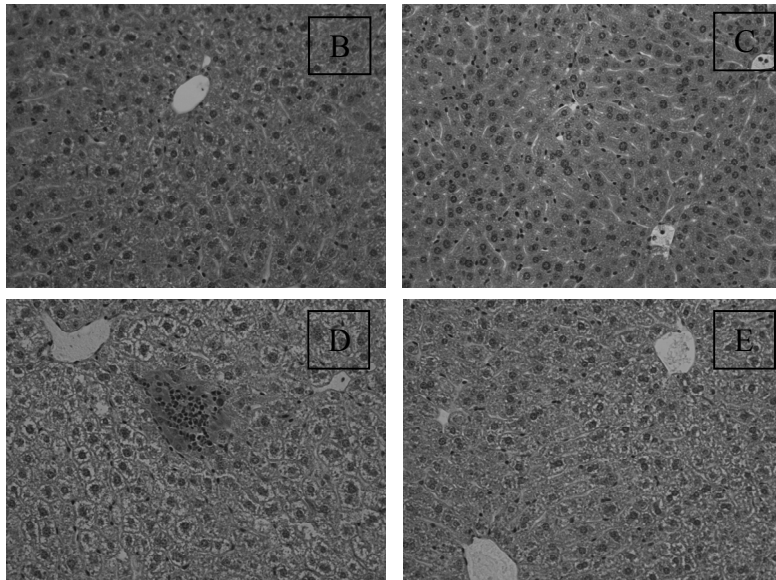
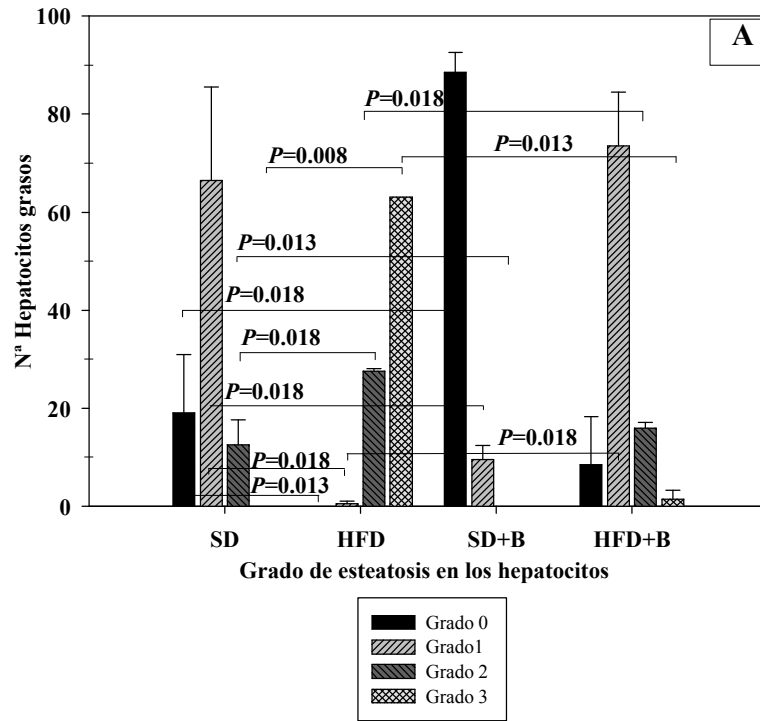


FIGURA 3.

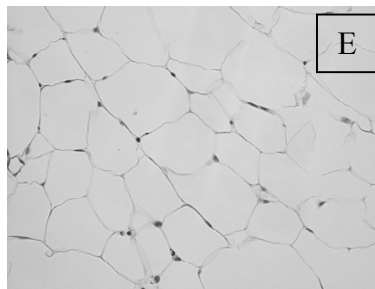
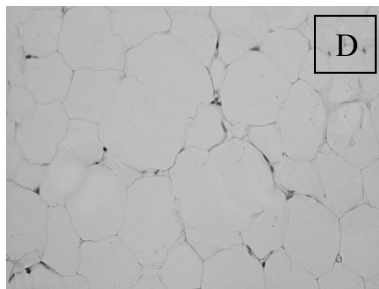
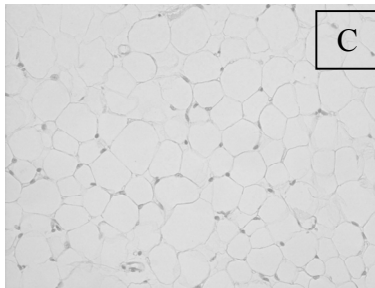
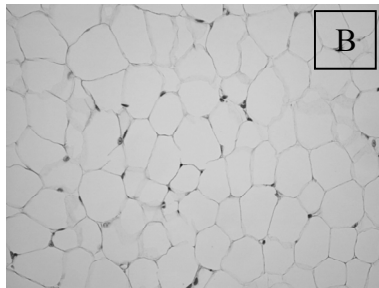
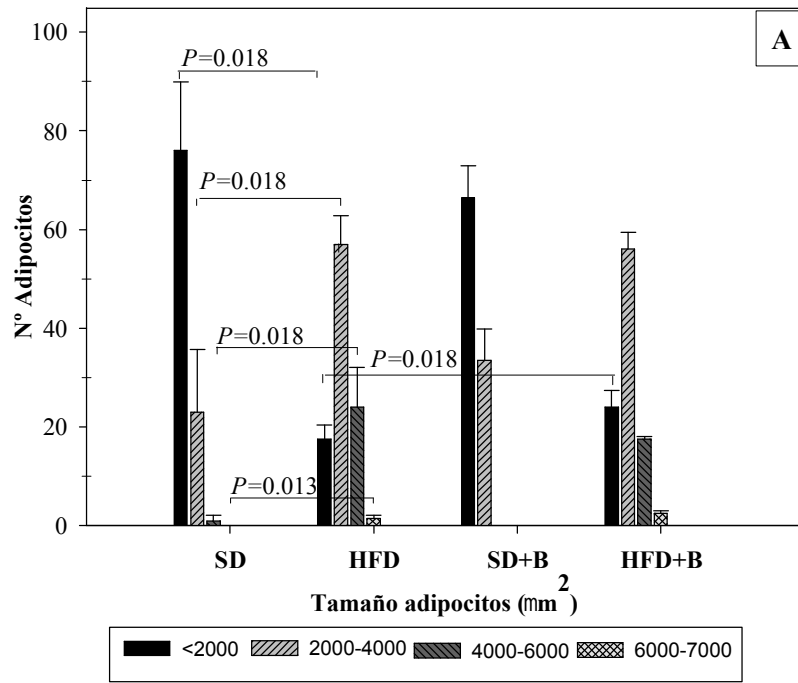


FIGURA 4.

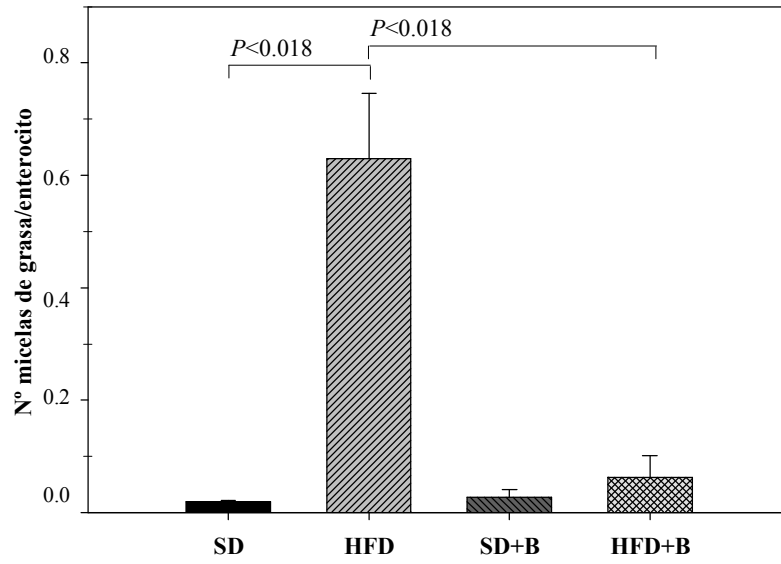


FIGURA 5.

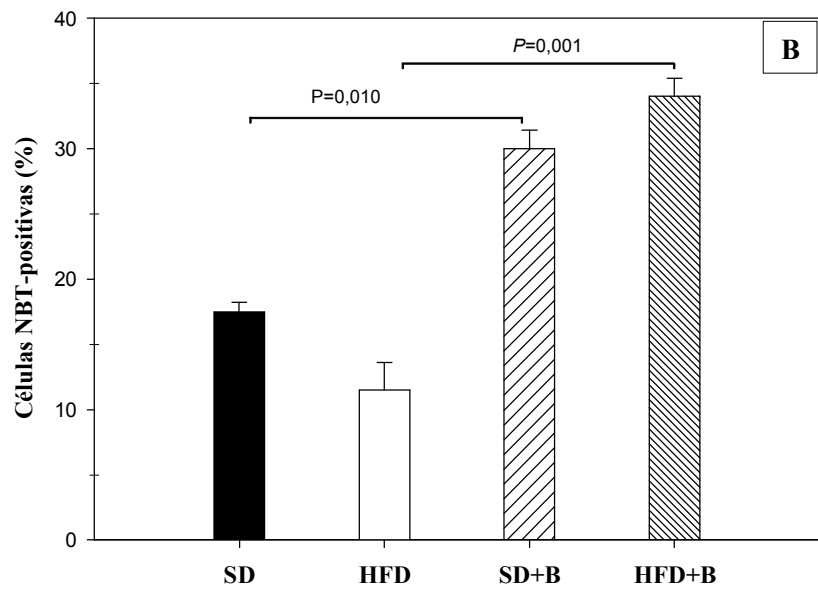
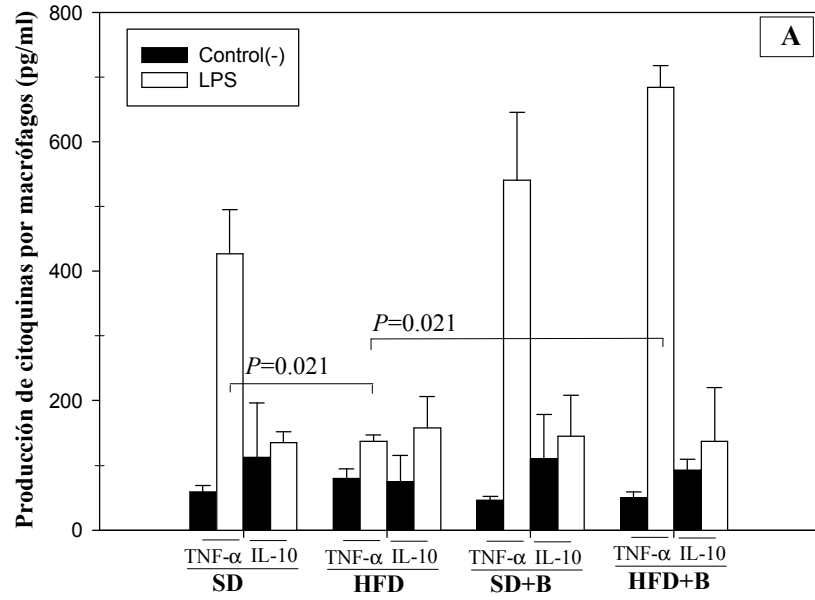


FIGURA 6.

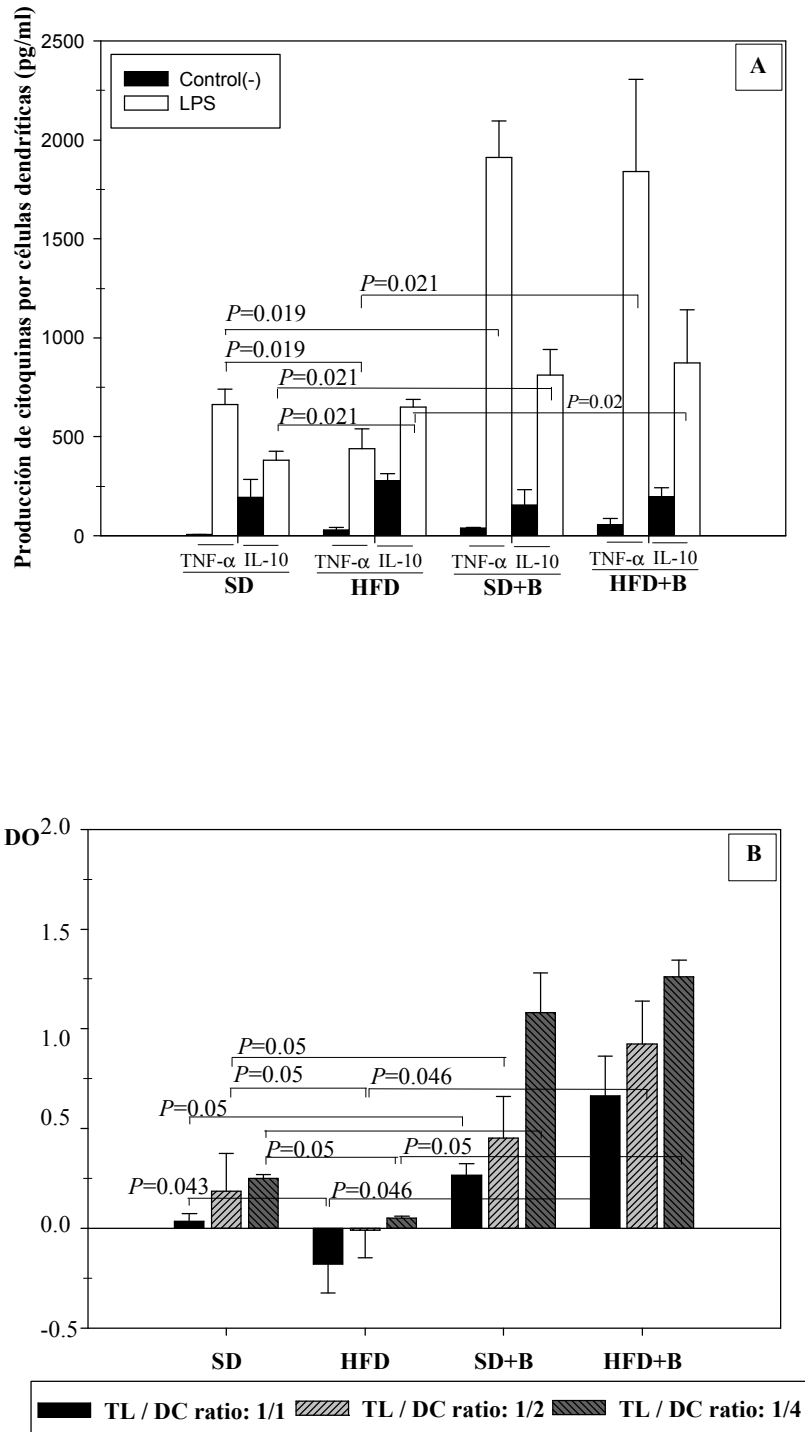
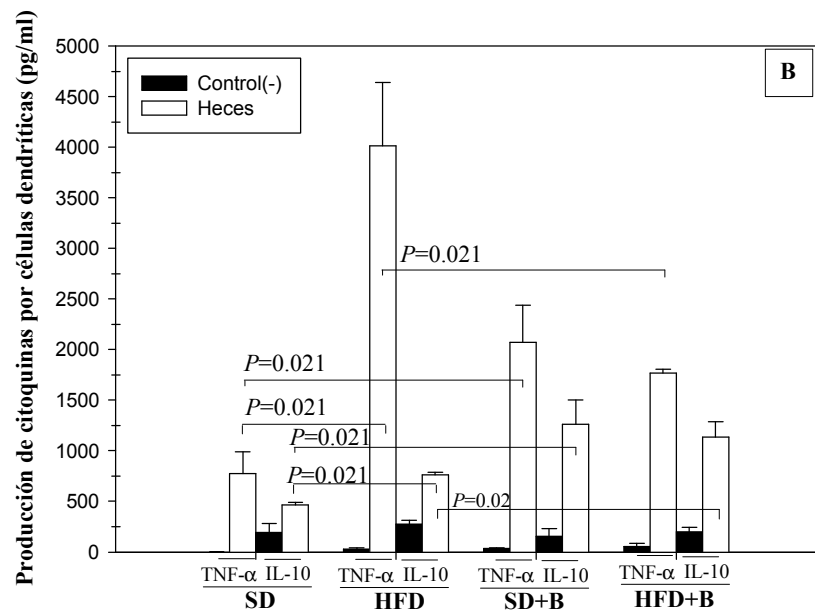
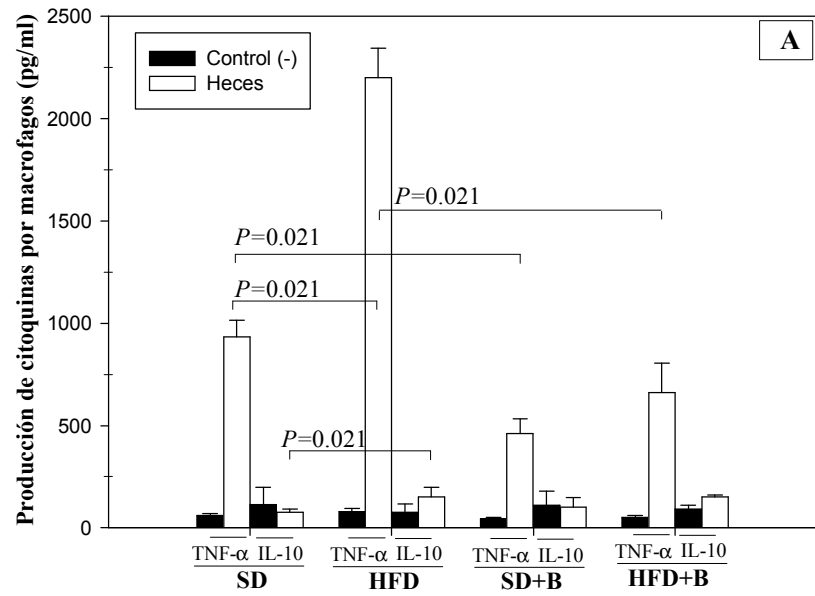


FIGURA 7.



ES 2 436 251 A1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

<120> Bacteroides CECT 7771 y su uso en la prevención y tratamiento de sobrepeso, obesidad y alteraciones metabólicas e inmunológicas

<160> 6

<170> BISSAP 1.0

<210> 1

<211> 1335

<212> DNA

<213> Bacteroides uniformis

<220>

<221> source

<222> 1..1335

<223> /mol_type="DNA"

/note="Secuencia del gen del ARN ribosómico 16S de la cepa Bacteroides uniformis CECT 7771"

/organism="Bacteroides uniformis"

<400> 1

```
agtcgagggg cagcatgaac ttagcttgct aagtttgatg gcgaccggcg cacgggtgag      60
taacacgtat ccaacctgcc gatgactcgg ggatagcctt tcgaaagaaa gattaatacc      120
cgatggcata gttcttccgc atggtagaac tattaaagaa tttcggtcac cgatggggat      180
gcgttccatt aggttggttg cggggtaacg gccaccaag ctttcgatgg ataggggttc      240
tgagaggaag gtccccaca ttggaactga gacacgggcc aaactcctac gggaggcagc      300
agtgaggaat attggtcaat ggacgagagt ctgaaccagc caagtagcgt gaaggatgac      360
tgccctatgg gttgtaaaact tcttttatac gggataaag tgaggcacgy gtgccttttt      420
gtatgtaccg tatgaataag gatcggctaa ctccgtgcca gcagccgagg taatacggag      480
gatccgagcg ttatccggat ttattgggtt taaagggagc gtaggcggac gcttaagtca      540
gttgtgaagt ttgcggctca accgtaaaat tgcagttgat actgggtgct ttgagtacag      600
tagaggcagg cgcaattcgt ggtgtagcgg tgaaatgctt acatatcacg aagaactccg      660
attgcgaagg cagcttgctg gactgtaact gacgctgatg ctcgaaagtg tgggtatcaa      720
acaggattag atacctggt agtccacaca gtaaacgatg aatactcgt gtttgcgata      780
tacagtaagc ggccaagcga aagcgttaag tattccacct ggggagtacg ccggcaacgg      840
tgaaactcaa aggaattgac gggggcccgc acaagcggag gaacatgtgg ttaattcga      900
tgatacgcga ggaaccttac ccgggcttga attgcaactg aatgatgtgg agacatgtca      960
gccgcaaggc agttgtgaag gtgctgatg gttgtcgtca gctcgtgccg tgaggtgtcg     1020
gcttaagtgc cataacgagc gcaaccttg tcgatagtta ccatcagggt atgctgggga     1080
ctctgtcgag actgccgtcg tgagatgtga ggaaggtggg gatgacrtca aatcascacg     1140
gsccttactr ccggggctac acacgtgtta caatgggggg tacagaaggc agctacacgg     1200
cgacgtgatg ctaatcccta aagcctctct cagttcggat tggagtctgc aaccgcactc     1260
catgaagctg gattcgctag taatcgcgca tcagccacgg cgcggtgaat acgttcccgg     1320
gtcttgatac caccg                                           1335
```

ES 2 436 251 A1

<210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <221> source
 <222> 1..20
 <223> /mol_type="DNA"
 /note="Secuencia del cebador 27f"
 /organism="Artificial Sequence"

 <400> 2
 agagtttgat cctggctcag 20

<210> 3
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <221> source
 <222> 1..17
 <223> /mol_type="DNA"
 /note="Secuencia del cebador 1401r"
 /organism="Artificial Sequence"

 <400> 3
 cggtgtgtac aagaccc 17

<210> 4
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <221> source
 <222> 1..16
 <223> /mol_type="DNA"
 /note="Secuencia del cebador 530f"
 /organism="Artificial Sequence"

 <400> 4
 gtgccagcag ccgcgg 16

<210> 5
 <211> 17
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <221> source
 <222> 1..17
 <223> /mol_type="DNA"
 /note="Secuencia del cebador U-968f"
 /organism="Artificial Sequence"

 <400> 5
 aacgcgaaga accttac 17

<210> 6
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>

ES 2 436 251 A1

<221> source
<222> 1..15
<223> /mol_type="DNA"
/note="Secuencia del cebador M13"
/organism="Artificial Sequence"

<400> 6
gagggtggcg gttct

15