

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 098**

51 Int. Cl.:

A61K 38/43 (2006.01)

A61K 38/46 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 35/74 (2015.01)

A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.12.2004 PCT/US2004/040513**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.06.2005 WO05055934**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.12.2004 E 04812935 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2020 EP 1694273**

54 Título: **Procedimientos para el tratamiento dietético del síndrome del intestino irritable y la malabsorción de carbohidratos**

30 Prioridad:

05.12.2003 US 528074 P

09.08.2004 US 915030

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

16.02.2021

73 Titular/es:

GANEDEN BIOTECH, INC. (100.0%)

5800 Landerbrook Drive, Suite 300

Mayfield Heights, OH 44124, US

72 Inventor/es:

FARMER, SEAN y

LEFKOWITZ, ANDREW R.

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 806 098 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimientos para el tratamiento dietético del síndrome del intestino irritable y la malabsorción de carbohidratos

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere al uso de bacterias productoras de ácido láctico probiótico en una composición nutricional. Más específicamente, la presente invención se refiere al uso de *Bacillus coagulans* para incrementar la absorción de carbohidratos dentro del tracto gastrointestinal de un mamífero.

Antecedentes de la invención

10 El sistema digestivo humano usa una serie de enzimas para descomponer los alimentos complejos en moléculas simples (por ejemplo, azúcares, péptidos y lípidos) que pueden ser absorbidas por el cuerpo. La incapacidad o la capacidad disminuida de la producción del cuerpo de una o más enzimas que son cruciales para una digestión adecuada pueden conducir a síntomas gastrointestinales que han sido caracterizados por la comunidad médica como el síndrome del intestino irritable (SII). Un paciente con SII típicamente presenta clínicamente una de tres variantes: i) dolor abdominal crónico y estreñimiento (también denominado colitis espástica); ii) diarrea crónica intermitente, a menudo sin dolor; o iii) ambas características, en un ciclo alternado de estreñimiento y diarrea.

Sumario de la invención

15 La invención está basada, en parte, en el descubrimiento de los efectos terapéuticos de *Bacillus coagulans*, una bacteria de ácido láctico que forma esporas, en la prevención y el tratamiento del SII y la malabsorción de carbohidratos. La malabsorción de carbohidratos incluye la incapacidad de un mamífero para digerir completamente los azúcares naturales (por ejemplo, lactosa, fructosa y glucosa) en alimentos y bebidas. La invención es definida en las reivindicaciones.

20 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un procedimiento de reducción de uno o más síntomas del síndrome del intestino irritable, por la identificación de un paciente que sufre o está en riesgo de desarrollar el síndrome del intestino irritable, y la administración al mismo de una composición que incluye la bacteria *Bacillus coagulans*. Las especies bacterianas incluyen *Bacillus coagulans*, por ejemplo, *Bacillus coagulans* Hammer, preferentemente la cepa de *Bacillus coagulans* Hammer con Núm. de Adquisición ATCC 31284, tal como, GBI-20 (Número de Designación ATCC PTA-6085); GBI-30 (Número de Designación ATCC PTA-6086); y GBI-40 (Número de Designación ATCC PTA-6087). (Véase, la Solicitud de Patente de los Estados Unidos en tramitación 09/708, 870). Los síntomas del SII incluyen diarrea, estreñimiento, alternancia de diarrea y estreñimiento, gases, hinchazón, urgencia y dolor abdominal (molestias intestinales). La composición también incluye un suplemento de enzimas (por ejemplo, una lactasa, una fructosa, una lipasa o una proteasa), un agente antidiarreico (por ejemplo, loperamida, atapulgita, extracto de Croton Lechleri o policarbófilo de calcio), un agente antigás (por ejemplo, enzima α -galactosidasa, simeticona, carbonato de calcio, hidróxido de aluminio o hidróxido de magnesio), o un laxante (por ejemplo, un senósido tal como senósidos A, B, C o D, docusato de sodio, hidróxido de magnesio o una fibra dietética). Un suplemento de lactasa incluye una enzima que cataliza la hidrólisis de la lactosa en el tracto gastrointestinal de un mamífero, en una concentración que excede la cantidad de lactasa presente en el intestino delgado o grueso de un mamífero antes de la colonización por *Bacillus coagulans*. La composición contiene una lactasa aislada, es decir, una enzima que ha sido purificada de una célula que produce la enzima. Un suplemento de fructosa incluye una enzima que cataliza la hidrólisis de la fructosa en el tracto gastrointestinal de un mamífero, en una concentración que excede la cantidad de fructosa presente en el intestino delgado o grueso de un mamífero antes de la colonización por *Bacillus coagulans*. El tracto gastrointestinal es el sistema de órganos de un mamífero que incluye la boca (cavidad bucal), la faringe, el esófago y el cardias, el estómago y los intestinos.

25 La colonización de la bacteria *Bacillus coagulans* generalmente ocurre entre 24 y 48 horas después de la administración. La colonización continuada es mejorada con la administración repetida de *Bacillus coagulans*, tal como la administración diaria. Generalmente, el suplemento de fructosa es proporcionado en una dosis de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI, y el suplemento de lactasa es proporcionado en una dosis de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI. En algunos regímenes de tratamiento, el grupo de pacientes objetivo es femenino, tal como una mujer que se encuentra en la etapa postmenstrual o postmenopáusica. Alternativamente, el paciente es un varón.

30 Una dosis terapéutica incluye bacterias *Bacillus coagulans* purificadas o sustancialmente purificadas en una concentración de aproximadamente 1×10^4 a aproximadamente 1×10^{12} bacterias viables, específicamente aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{11} , más específicamente aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} , y más específicamente aproximadamente 8×10^8 . Una preparación sustancialmente purificada de una célula bacteriana es una preparación de células en la que las células contaminantes sin el genotipo deseado constituyen menos que 10%, preferentemente menos que 1%, y más preferentemente menos que 0,1% del número total de células de la preparación. Las bacterias *Bacillus coagulans* se encuentran en forma de esporas, células

vegetativas o una de sus combinaciones. Preferentemente, la composición no contiene bacterias *Lactobacillus acidophilus*.

5 La presente divulgación también proporciona un procedimiento de reducción uno o más síntomas del síndrome del intestino irritable, mediante la identificación de un paciente que sufre o está en riesgo de desarrollar el síndrome del intestino irritable, y la administración al paciente de una composición que incluye una cantidad efectiva de bacterias *Bacillus coagulans* para inhibir el SII antes o simultáneamente con la aparición de uno o más síntomas del SII. Los síntomas del SII incluyen diarrea, estreñimiento, alternancia de diarrea y estreñimiento, hinchazón, urgencia y dolor abdominal.

10 En otro aspecto, la divulgación proporciona un procedimiento de reducción de un síntoma del síndrome del intestino irritable, mediante la identificación de un paciente que sufre o están en riesgo de desarrollar el síndrome del intestino irritable, y la administración al paciente de una composición que incluye un suplemento de enzimas, preferentemente una fructosa y una lactasa.

15 La presente divulgación también proporciona un procedimiento de diagnóstico del síndrome del intestino irritable en un paciente, incluyendo las etapas de identificación de un paciente que tenga un síntoma del síndrome del intestino irritable, proporción de una muestra biológica derivada del paciente identificado, determinación de una cantidad de un producto de una enzima gastrointestinal en la muestra del paciente y comparación de la cantidad en la muestra del paciente con una cantidad de referencia de un producto de una enzima gastrointestinal, a través de lo que una alteración en la cantidad de prueba con relación a la cantidad de referencia indica que el paciente tiene el síndrome del intestino irritable.

20 Una enzima gastrointestinal incluye cualquier enzima que sea activa en el tracto gastrointestinal, particularmente en el estómago y en el intestino delgado y grueso. Una muestra biológica incluye cualquier material sólido, líquido o gaseoso obtenido de un mamífero, tal como un paciente humano. Los síntomas del SII incluyen diarrea, estreñimiento o alternancia de diarrea y estreñimiento. La enzima gastrointestinal incluye una lactasa, una fructosa, una lipasa y una proteasa. En realizaciones de la invención, el paciente identificado con un síntoma del síndrome del intestino irritable
25 tiene uno o más síntomas clasificados bajo los Criterios de Roma. La cantidad del producto de una enzima gastrointestinal en la muestra obtenida por el paciente es modulada tras la administración de las composiciones de la invención. Por ejemplo, el hidrógeno medido mediante la prueba de hidrógeno en el aliento disminuye tras la administración de una composición que contenga *Bacillus coagulans*.

30 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un procedimiento de mejora de la consistencia de las heces de un paciente que padece SII sin estreñimiento, por la administración de una cantidad efectiva de una bacteria *Bacillus coagulans* proporcionada en una concentración de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} bacterias viables, en el que la consistencia de las heces del paciente mejora después de la administración. Por ejemplo, las heces anormales del paciente están caracterizadas por ser grumosas/duras o sueltas/acuosas y una mejora incluye menos heces estreñidas o con diarrea.

35 En otro aspecto, la presente divulgación se refiere a un procedimiento de disminución de la urgencia en un individuo afectado por el SII, por la administración de una cantidad efectiva de una bacteria *Bacillus coagulans* proporcionada en una concentración de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} bacterias viables en el que la urgencia es disminuida después de la administración. La incontinencia fecal es la incapacidad de controlar o retrasar las evacuaciones intestinales hasta el momento adecuado, por ejemplo, hasta que se pueda llegar al baño. La urgencia
40 es un impulso repentino de evacuar los intestinos tan fuerte que, si no se dispone inmediatamente de un baño, se producirá la incontinencia.

45 La presente divulgación también proporciona una composición que incluye la bacteria *Bacillus coagulans*, un suplemento de lactasa (por ejemplo, β -galactosidasa), y un suplemento de fructosa. Generalmente, el suplemento de lactasa es proporcionado en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI (por ejemplo, aproximadamente 3.000 UI), y el suplemento de fructosa es proporcionado en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI (por ejemplo, aproximadamente 3.000 UI). La composición también incluye un agente antidiarreico, un agente antigás, un laxante, una vitamina, un mineral, un aminoácido aislado, una fuente de fibra dietética o un antibiótico. La composición también puede incluir un portador farmacéuticamente aceptable que contenga, por ejemplo, sílica. La composición se encuentra en forma de cápsula
50 comprimido (incluyendo una comprimido masticable), polvo, líquido o en una formulación con un producto alimenticio. Los productos alimenticios incluyen productos lácteos tal como helado, barras nutricionales (barras energéticas o de caramelo), sustitutos del azúcar, cremas no lácteas, bolsitas de té y productos similares. Las fuentes de fibra dietética incluyen la cáscara de psilio, fibra de soja, fibra de cítricos, fibra de remolacha, harina de semillas de calabaza, lino molido, cáscara de nuez negra, fibra de arroz, polisacáridos hidrocóloides, cáscara de nuez, y cáscara de maní.

55 La presente divulgación proporciona una composición que contiene una bacteria *Bacillus coagulans* y un suplemento de enzimas proporcionado en una formulación con un producto alimenticio. Por ejemplo, el producto alimenticio es un producto lácteo (un producto que contiene un componente obtenido de la leche de vaca, oveja, cabra o un mamífero similar).

Además, en la presente memoria es proporcionado una composición que incluye de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} bacterias *Bacillus coagulans*, un suplemento de lactasa en una concentración de aproximadamente 3.000 UI, un suplemento de fructosa en una concentración de aproximadamente 3.000 UI, y estearato de manganeso.

5 La presente divulgación también proporciona una composición que incluye una lactasa aislada proporcionada en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI por dosis y una fructosa aislada proporcionada en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI por dosis. La composición también incluye un agente antidiarreico, un agente antigás, un laxante, una vitamina, un mineral, un aminoácido aislado, una fuente de fibra dietética, un antibiótico o una de sus combinaciones.

10 La presente divulgación también proporciona un procedimiento de aumento de la absorción de carbohidratos en un mamífero, mediante la administración a un mamífero de una composición que incluye una bacteria *Bacillus coagulans*, un suplemento de lactasa (*por ejemplo*, suministrada en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI), y un suplemento de fructosa (*por ejemplo*, suministrado en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI), en el que la absorción de carbohidratos aumenta después de la administración. Es diagnosticado que el mamífero padece o está en riesgo de padecer un trastorno asociado a la mala absorción de carbohidratos. Los trastornos asociados con la malabsorción de carbohidratos incluyen intolerancia a la lactosa, intolerancia a la fructosa, intolerancia a la glucosa y galactosa, intolerancia al sorbitol, síndrome del intestino irritable, síndrome del intestino corto, síndrome de asa estancada, enfermedad celíaca, desnutrición crónica, diarrea crónica persistente, enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado, diarrea intratable de la infancia, síndrome de postenteritis, esprúe tropical, enfermedad de Whipple, enfermedad de Wolman, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa. La composición incluye opcionalmente un agente antidiarreico, un agente antigás, un laxante, una vitamina, un mineral, un aminoácido aislado, una fuente de fibra dietética o un antibiótico.

La presente divulgación proporciona además un procedimiento de aumento de la digestión de la lactosa, que incluye las etapas de identificación de un paciente que sufre o está en riesgo de sufrir intolerancia a la lactosa, y la administración al paciente de una composición que incluye la bacteria *Bacillus coagulans* y un suplemento de lactasa (por ejemplo, proporcionado en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI), a través de lo que la digestión de la lactosa aumenta tras la administración.

La presente divulgación también proporciona una composición que incluye una bacteria *Bacillus coagulans* y un suplemento de fructosa, por ejemplo, una fructosa proporcionada en una concentración de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI. La composición también incluye un aminoácido aislado. La composición es proporcionada en forma de una cápsula, comprimido (incluyendo comprimido masticable), polvo, líquido o en una formulación con un producto alimenticio. La bacteria *Bacillus coagulans* está derivada de la cepa de *Bacillus coagulans* Hammer con Núm. de Adquisición ATCC 31284.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un alimento médico para el tratamiento del síndrome del intestino irritable, que incluye la bacteria *Bacillus coagulans* y un aminoácido aislado (*por ejemplo*, L-lisina), en el que dicho alimento médico está formulado para proporcionar al menos aproximadamente 1×10^6 (*por ejemplo*, 1×10^7 , 1×10^8 u 8×10^8 o más) de bacterias *Bacillus coagulans* viables en el tracto gastrointestinal de un mamífero por día, en base a un tamaño de porción de aproximadamente 0,5 gramos a aproximadamente 25 gramos del alimento médico tomado hasta dos veces al día. En realizaciones de la invención, el alimento médico es proporcionado en una dosis de la colonización de aproximadamente 1×10^5 (por ejemplo, 1×10^6 o 1×10^7) bacterias *Bacillus coagulans* viables por gramo de materia fecal en un mamífero después del consumo del alimento médico. En realizaciones de la invención, el alimento médico incluye un suplemento de enzimas tal como una lactasa, una fructosa, una lipasa o una proteasa. En otros casos, el alimento médico incluye un agente antidiarreico, un agente antigás, un laxante, una vitamina, un mineral, un aminoácido adecuado, una fuente de fibra dietética, y/o un antibiótico.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento dietético de la absorción de carbohidratos de un individuo, incluyendo las etapas de identificación de un paciente que tenga un síntoma de malabsorción de carbohidratos, y proporción de una composición que comprenda la bacteria *Bacillus coagulans* al paciente identificado, en el que la bacteria coloniza el tracto gastrointestinal del individuo, por lo que la absorción de carbohidratos por parte del individuo es modulada, de manera tal que la absorción de carbohidratos del individuo es tratada. El tratamiento dietético de la absorción de carbohidratos del individuo resulta en una reducción o eliminación de uno o más de los síntomas de la malabsorción de carbohidratos.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un procedimiento de tratamiento dietético de la absorción de carbohidratos de un individuo, incluyendo las etapas de identificación de un paciente que tenga un síntoma de malabsorción de carbohidratos, proporción de una muestra biológica derivada del paciente identificado, determinación de una cantidad de un producto de una enzima gastrointestinal en la muestra del paciente, comparación de la cantidad en la muestra del paciente con una cantidad de referencia de un producto de una enzima gastrointestinal, y proporción de una composición que comprenda la bacteria *Bacillus coagulans*, a través de lo que es tratada la absorción de carbohidratos del individuo. La cantidad de un producto de una enzima gastrointestinal en la muestra obtenida por el paciente es determinada mediante una prueba de hidrógeno y/o metano en el aliento. La cantidad del producto en la muestra obtenida por el paciente disminuye tras la administración de la composición que contiene *Bacillus coagulans*.

La absorción de carbohidratos del paciente es tratada de manera tal que uno o más síntomas de malabsorción de carbohidratos disminuyan o sean eliminados.

5 La presente divulgación proporciona además un procedimiento de aumento de la absorción de carbohidratos en un paciente al que se le ha diagnosticado que sufre de enfermedad celíaca o que está en riesgo de desarrollarla, por la administración al individuo de una composición compuesta por la bacteria *Bacillus coagulans*, en el que la absorción de carbohidratos en el paciente aumenta tras la administración.

10 En otro aspecto, la presente revelación proporciona un procedimiento de reducción de un síntoma del SII, en el que el síntoma incluye la alternancia de diarrea y estreñimiento, mediante la identificación de un paciente que sufre o está en riesgo de desarrollar el síndrome del intestino irritable, y la administración al paciente de una composición que incluye la bacteria *Bacillus coagulans* en una dosis que reduce uno o más síntomas del SII.

15 Una composición que contiene la bacteria *Bacillus coagulans* para el tratamiento del SII, intolerancia a la lactosa y otros estados patológicos asociados con la malabsorción de carbohidratos tiene varias ventajas de otros productos que contienen *Lactobacillus acidophilus*, incluyendo la capacidad de crecer en una mayor variedad de condiciones de pH tal como el entorno ácido del estómago y el entorno básico del intestino delgado y grueso, una mayor germinación y supervivencia en presencia de ácidos biliares (incluyendo ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido deshidrocólico y ácido cenodeoxicólico), y competir más eficientemente con las bacterias residentes en el intestino.

20 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica al que pertenece esta invención. Aunque en la práctica o en las pruebas de la presente invención pueden ser usados procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, a continuación son descritos los procedimientos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la presente especificación, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

Otras características y ventajas de la invención serán evidentes en la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

25 **Breve descripción del dibujo**

La Figura 1 es un gráfico que muestra los resultados de un ensayo cinético que demuestra el uso de azúcares alimentarios por la bacteria *Bacillus coagulans*.

Descripción detallada

30 El diagnóstico médico del SII se basó en la ausencia o presencia de una serie de síntomas, que generalmente son considerados típicos del SII y que son proporcionados, por ejemplo, en "Rome Criteria" (Véase, W. G. Thompson et al., Gastroent. Int. 2 (1989) 92-95; W. G. Thompson et al., Gut 45/II (1999) II43-II 47; W. G. Thompson, Lancet 341 (1993) 1569-1572), y Rome II Criteria. Las directrices para el diagnóstico del SII de acuerdo con los criterios de Roma incluyen los síntomas continuos o recurrentes de dolor o malestar abdominal que pueden ser aliviados a través de la defecación, pueden estar asociados con un cambio en la frecuencia o pueden estar asociados con un cambio en la consistencia de las heces; y que dos o más de los siguientes síntomas estén presentes al menos el 25 por ciento de los casos: frecuencia alterada de las heces (más de 3 evacuaciones por día o menos de 3 evacuaciones por semana), forma alterada de las heces (heces acuosas duras o sueltas o heces mal formadas), paso de heces mucosas, e hinchazón (sensación de distensión abdominal).

40 Los Criterios Diagnósticos de Roma II (un sistema de diagnóstico de trastornos gastrointestinales funcionales basado en los síntomas) para el SII son los siguientes:

Al menos 12 semanas o más, que no tienen por qué ser consecutivas, en los 12 meses anteriores de molestias o dolores abdominales acompañados por al menos dos de las siguientes características:

- 1) Se alivia con la defecación, y/o
- 2) La aparición está asociada con un cambio en la frecuencia de las heces, y/o
- 45 3) La aparición está asociada con un cambio en la forma (aspecto) de las heces.

Otros síntomas que no son esenciales pero que apoyan el diagnóstico del SII: Frecuencia anormal de las heces (más de 3 deposiciones/día o menos de 3 deposiciones/semana); Forma anormal de las heces (heces grumosas/duras o sueltas/acuosas); Paso anormal de las heces (esfuerzo, urgencia o sensación de evacuación incompleta); Paso de moco; Hinchazón o sensación de distensión abdominal.

50 Recientemente ha sido discutida la importancia de los carbohidratos en la aparición de los síntomas del SII. (Véase, Scand J Gastroenterol. 1998. 33(11):1158-63, Isr Med Assoc J. 2000. 2(8):583-7, Am J Gastroenterol. 2003. 98(6):1348-53). El SII y la malabsorción de carbohidratos a menudo han sido confundidos entre sí. Un diagnóstico confiable es crítico para determinar la dosis adecuada para tratar los síntomas del SII. La presente invención

proporciona procedimientos de diagnóstico para la detección y el diagnóstico del SII en pacientes, tal como seres humanos, que sufren de SII, o están en riesgo de desarrollar SII.

La presente invención también proporciona procedimientos de reducción de los síntomas del SII. Antes de la presente invención, ha sido difícil reducir efectivamente los síntomas en el tratamiento del síndrome del intestino irritable. Los objetivos del tratamiento terapéutico eran reducir la variedad de quejas, y mejorar las condiciones para disminuir la morbilidad y aumentar la calidad de la vida diaria del paciente. Los tratamientos terapéuticos incluyen psicoterapia, orientaciones para la vida, terapia dietética, y terapia con medicamentos usados de forma sintomática contra las dolencias del paciente. Han sido usado compuestos que incluyen agonistas opioides (por ejemplo, loperamida) o agentes anticolinérgicos (por ejemplo, bromuro de mepenzolato y bromuro de timepidio) para controlar la hipermotilidad del aparato digestivo, y han sido recetados medicamentos benzodiacepínicos (por ejemplo, diazepam) para la ansiedad, el insomnio y dolencias similares. Recientemente han sido usados antagonistas de la 5-hidroxitriptamina (5-HT; serotonina) y receptores de 5-HT para tratar el SII. (Véase, la Patente de los Estados Unidos 6.429.209). Una deficiencia de estos tratamientos es que generalmente son incapaces de reducir o eliminar los múltiples síntomas del SII, particularmente cuando el paciente sufre de alternancias de diarrea y estreñimiento. Las composiciones de la presente invención alivian múltiples síntomas de la mala absorción de carbohidratos, incluyendo dolores, flatos, hinchazón abdominal, diarrea, estreñimiento y alternancia de diarrea y estreñimiento.

La presente divulgación también proporciona procedimientos de tratamiento de enfermedades asociadas con la malabsorción de carbohidratos. Estas enfermedades, además del SII, incluyen intolerancia a la lactosa, intolerancia a la fructosa, intolerancia a la glucosa y galactosa, intolerancia al sorbitol, síndrome del intestino corto, síndrome de asa estancada, enfermedad celíaca, malnutrición crónica, diarrea crónica persistente, enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado, diarrea intratable de la infancia, síndrome de postenteritis, esprúe tropical, enfermedad de Whipple, enfermedad de Wolman, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.

Bacillus coagulans

Bacillus coagulans es una cepa de bacteria que posee la capacidad de esporulación, haciendo la cepa resistente al calor y a otras condiciones, así como proporcionando una larga vida útil en las formulaciones de los productos. Además, *Bacillus coagulans* es ideal para la supervivencia y la colonización de tejidos en condiciones de pH, salinidad y similares dentro del tracto gastrointestinal. Además, *Bacillus coagulans* no es patógeno. Los procedimientos preferentes desvelados en la presente memoria usan células y esporas de *Bacillus coagulans*. Los procedimientos de preparación de células vegetales y esporas de *Bacillus coagulans* son presentados en el Ejemplo 1.

Las bacterias *Bacillus coagulans* tienen la capacidad de consumir y metabolizar rápida e intracelularmente numerosos carbohidratos de la dieta. Además, las bacterias *Bacillus coagulans* también secretan extracelularmente una o más enzimas, tal como la lactasa, que digieren enzimáticamente los azúcares de la dieta. Como es descrito en el Ejemplo 6 y mostrado en la Figura 1, las bacterias *Bacillus coagulans* son capaces de metabolizar carbohidratos incluyendo lactosa, fructosa, sorbitol, maltosa, sacarosa, inulina y manano.

Las bacterias *Bacillus coagulans* colonizan el tracto gastrointestinal de un mamífero al que son proporcionadas por vía entérica. Generalmente, la colonización ocurre dentro de las 24 a 48 horas siguientes a la administración. La eficiencia de la colonización intestinal de un mamífero es determinada, por ejemplo, mediante la cuantificación del número de bacterias *Bacillus coagulans* por gramo de heces del mamífero. Un mamífero ha sido colonizado por la bacteria *Bacillus coagulans* de la presente invención si las heces del mamífero contienen más de 1×10^4 bacterias viables por gramo de heces, preferentemente 1×10^5 bacterias viables por gramo de heces. Preferentemente, las heces contienen 1×10^6 bacterias viables por gramo de heces.

Una especie de *Bacillus coagulans*, que es útil en la presente invención, había sido mal caracterizada anteriormente como *Lactobacillus*; esta bacteria fue etiquetada como *Lactobacillus sporogenes*. Sin embargo, la clasificación inicial era incorrecta debido a que *Bacillus coagulans* produce esporas y a través del metabolismo excreta el ácido L(+)-láctico, aspectos ambos que proporcionan características clave para su utilidad. En cambio, estos aspectos del desarrollo y el metabolismo exigían que la bacteria fuera clasificada como *Bacillus* de ácido láctico, y por lo tanto fue nuevamente designada. En consecuencia, las bacterias útiles en la invención: (i) poseen la capacidad de producir y excretar enzimas útiles para la digestión (por ejemplo, lactasa, diversas proteasas, lipasas y amilasas); (ii) demuestran una función beneficiosa en el tracto gastrointestinal; y (iii) no son patógenas.

Las bacterias Gram positivas en forma de barra de *Bacillus coagulans* tienen un diámetro celular mayor que $1,0 \mu\text{m}$ con inflamación variable del esporangio, sin producción de cristales parasporales. *Bacillus coagulans* es una bacteria no patógena, Gram positiva, formadora de esporas, que produce ácido L(+) láctico (dextrorrotatorio) en condiciones de homofermentación. Ha sido aislada de fuentes naturales, como muestras de suelo tratadas térmicamente e inoculadas en un medio nutritivo (véase, por ejemplo, Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Vol. 2, Sneath, P.H.A. et al., eds., Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1986). Las cepas purificadas de *Bacillus coagulans* han servido como fuente de enzimas, incluidas las endonucleasas (por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Núm. 5.200.336); amilasa (Patente de los Estados Unidos Núm. 4.980.180); la lactasa (Patente de los Estados Unidos Núm. 4.323.651) y ciclomaltodextrina glucanotransferasa (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.102.800). En particular, las cepas de

Bacillus coagulans han sido usadas como suplementos nutricionales generales y agentes para controlar el estreñimiento y la diarrea en seres humanos y animales.

Diversas cepas bacterianas de *Bacillus coagulans* que actualmente se encuentran disponibles comercialmente de la American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) incluyen los siguientes números de adquisición: *Bacillus coagulans* Hammer NRS 727 (Núm. ATCC 11014); cepa C *Bacillus coagulans* Hammer (Núm. ATCC 11369); *Bacillus coagulans* Hammer (Núm. ATCC 31284); y *Bacillus coagulans* Hammer NCA 4259 (Núm. ATCC 15949). Las bacterias *Bacillus coagulans* purificadas también pueden ser obtenidas de la Deutsche Sarumlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (Braunschweig, Germany) usando los siguientes números de adquisición: *Bacillus coagulans* Hammer 1915 (Núm. DSM 2356); *Bacillus coagulans* Hammer 1915 (Núm. DSM 2383, corresponde al Núm. ATCC 11014); *Bacillus coagulans* Hammer (Núm. DSM 2384, corresponde al Núm. ATCC 11369); y *Bacillus coagulans* Hammer (Núm. DSM 2385, corresponde al Núm. ATCC 15949). La bacteria *Bacillus coagulans* también puede ser obtenida de proveedores comerciales tal como K.K. Fermentation (Kyoto, Japan) y Nebraska Cultures (Walnut Creek, CA). Las composiciones incluyen cepas o variantes derivadas de la cepa de *Bacillus coagulans* Hammer Núm. ATCC 31284 tal como ATCC PTA-6085, PTA-6086, o PTA-6087.

Las bacterias *Bacillus coagulans* son proporcionadas en cantidades suficientes para colonizar el tracto gastrointestinal de un mamífero. La invención proporciona bacterias *Bacillus coagulans* en una concentración de aproximadamente 1×10^4 a aproximadamente 1×10^{12} bacterias viables, específicamente aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{11} , más específicamente aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} , y más específicamente aproximadamente 1×10^8 . Las bacterias *Bacillus coagulans* son proporcionadas como células vegetativas, esporas, o una de sus combinaciones.

Fructosa

La fructosa de la invención es una enzima que cataliza la hidrólisis de la fructosa en el tracto gastrointestinal de un mamífero. La fructosa es purificada de un hongo tal como *Aspergillus oryzae*. La fructosa también se encuentra disponible comercialmente de Specialty Enzymes and Biochemicals (Chino, CA), Spectrum Chemicals (Los Angeles, CA), y Solvay Enzymes (Edison, NJ).

La actividad de la fructosa es medida *in vivo* usando la prueba de iones de hidrógeno en el aliento. A un paciente que se ha abstenido de carbohidratos durante al menos doce horas se le da una solución de fructosa al 33% (50 g por 150 ml de agua), y son recogidas muestras de aliento al final de la espiración antes (el valor de referencia) y cada 15-30 minutos durante cuatro a seis horas después de la ingestión de azúcar. Las concentraciones de hidrógeno (y otros gases tal como metano) en el aliento son medidas mediante cromatografía de gases. Una persona es definida como intolerante a la fructosa si es observado un aumento de al menos 3 partes por millón (ppm) en tres pruebas de aliento consecutivas con respecto al valor de referencia o un valor superior a 20 ppm después de la ingestión de azúcar.

Lactasa

La lactasa de la invención es una enzima que cataliza la hidrólisis de la lactosa en el estómago y/o el intestino. En ciertas realizaciones, son usadas dos lactasas con diferentes intervalos de pH óptimos (*por ejemplo*, una primera lactasa que tiene un intervalo de pH óptimo que abarca de pH 3,0 a aproximadamente pH 6,0, y una segunda lactasa que preferentemente tiene un intervalo de pH óptimo que abarca de pH 6,0 a aproximadamente pH 8,0). Un intervalo óptimo de pH significa el pH sobre el cual la actividad hidrolítica de la lactasa está dentro de aproximadamente 10 a 100 por ciento de su valor máximo, y el valor óptimo de pH significa el pH en el cual la lactasa exhibe la máxima actividad hidrolítica.

Generalmente, el suplemento de lactasa es proporcionado en una dosis de aproximadamente 1.000 UI a aproximadamente 12.000 UI, *por ejemplo*, 3.000 UI de lactasa por dosis. En realizaciones de la invención, el suplemento de lactasa es proporcionado en una concentración que es una función del número de bacterias de *Bacillus coagulans* presentes en la dosis administrable. Por ejemplo, un suplemento de lactasa y la bacteria *Bacillus coagulans* son proporcionados en una proporción de aproximadamente 1 UI de lactasa por cada 3 bacterias de *Bacillus coagulans*. La proporción de bacterias lactasa a *Bacillus coagulans* puede ser de aproximadamente 1:10, 1:5, 1:3, 1:2, 1:1.5, 1:1, 1.5:1, 2:1, 3:1, 5:1 o 10:1.

Generalmente es sabido que las lactasas derivadas de los hongos tienen valores óptimos de pH que caen dentro del intervalo ácido. Los géneros de hongos útiles para obtener lactasas incluyen *Aspergillus*; *Mucor*; *Fusarium*; *Scopulariopsis*; *Alternaria*; y *Curvularia* y la bacteria *Thermus aquaticus*. Las lactasas, que tienen el valor de pH óptimo indicado entre paréntesis, preferentemente son derivadas de los siguientes hongos: *Aspergillus oryzae*; (4,5-5,0) *Aspergillus niger* (3,0-4,0); *Fusarium moniliforme* (3,8-5,0); *Scopulariopsis* (3,6-5,0); *Mucor pucillus* (4,5-6), *Alternaria alternara* (4,5-5,3); y *Curvularia inaequalis* (3,4-4,3) y la bacteria *Thermus aquaticus* (4,5-5,5).

Generalmente es sabido que las lactasas derivadas de levaduras y bacterias tienen valores de pH óptimos en la región más neutra, incluyendo *Kluyveromyces* (*Saccharomyces*), *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus* y *Escherichia*. Son preferentes las lactasas derivadas de los siguientes organismos, que tienen el valor de pH óptimo indicado entre paréntesis: *Kluyveromyces lactis* (6,5), *Kluyveromyces fragilis* (6,6), *Lactobacillus thermophilus* (6,2-7,1), *Bacillus*

circulans (6,0), *Lactobacillus bulgaricus* (7,0), *Leuconostoc citrovorum* (56,5), *Bacillus stearothermophilus* (6,0-6,4), *Streptococcus thermophilus* (6,5-7,5), y *Bacillus sp.* (6,8).

Las lactasas usadas en la presente invención son producidas por una variedad de técnicas bien conocidas. Muchas de estas lactasas son producidas por procesos comerciales que cultivan la bacteria, levadura u hongo, y luego aíslan la lactasa del cultivo o caldo de cultivo del microorganismo. Otras técnicas de preparación de tales lactasas pueden encontrarse en la Patente de los Estados Unidos Núm. 3.629.073; Patente de los Estados Unidos Núm. 3.718.739; y Patente de los Estados Unidos Núm. 3.919.049.

La actividad de la lactasa es medida *in vivo* con la prueba de iones de hidrógeno en el aliento. A un paciente que se ha abstenido de los carbohidratos durante al menos doce horas se le da una solución de lactosa (18-50 g), y son recogidas muestras de aliento al final de la espiración antes y cada 15-30 minutos durante cuatro a seis horas después de la ingestión de azúcar. Las concentraciones de hidrógeno (y otros gases tal como metano) en el aliento son medidas mediante cromatografía de gases. En los pacientes no intolerantes a la lactosa se suele observar un aumento de la concentración de hidrógeno en el aliento de 10 partes por millón (ppm) tras la ingestión de azúcar. La absorción incompleta de carbohidratos es definida como un aumento de hidrógeno en el aliento de 20 ppm (o su equivalente de 5 ppm en metano) después de la ingestión de azúcar.

La actividad de la lactasa es cuantificada en unidades. Una unidad de lactasa FCC (FCC Lac U), e UI y una unidad de lactasa neutra son definidas como la cantidad de enzima que libera 1 μmol de o-nitrofenol desde o-nitrofenil-p-D-galactósido por minuto bajo las condiciones de ensayo descritas en Food Chemicals Codex, National Academy Press, Wash., D. C., pp. 491-2 (1981), a pH 4,5 y 6,5, respectivamente.

20 **Otras enzimas gastrointestinales**

La actividad de la amilasa (α -1,4-glucano 4-glucanohidrolasa, EC 3.2.1.1.) es determinada usando el procedimiento de Somogyi (véase, Somogyi, 1960. "Modification of two methods for the assay of amylase." Clin Chem. 6:23-35). Una unidad de actividad de la amilasa es definida como la cantidad de amilasa que causa la formación de un poder reductor equivalente a 1 mg de glucosa en 30 minutos a 40 grados C por miligramo de proteína de digestión intestinal. La maicena es un sustrato de amilasa útil para la calibración de las unidades de actividad de la amilasa.

La actividad de la lipasa (por ejemplo, Ips aw 02513, lipasa de triacilglicerol, EC 3.1.1.3.) es ensayada usando el procedimiento de Tietz and Fiereck (Véase, Tietz and Fiereck, 1966. Clin. Chim. Acta 13:352-58). Una unidad de actividad de la lipasa es igual al volumen (ml) de 0,05 M de NaOH necesario para neutralizar el ácido graso liberado durante una incubación de 6 horas con 3 ml de sustrato de lipasa (por ejemplo, aceite de oliva) a 37 grados C por miligramo de proteína de la digestión. Las lipasas pueden ser purificadas de *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aruginosa* y también están disponibles comercialmente.

Las peptidasas y proteasas incluyen enzimas que degradan un polipéptido por hidrólisis de los enlaces peptídicos. Las peptidasas incluyen amino-, dipeptidil- y tripeptidil-peptidasas. Las proteasas útiles incluyen la proteinasa Arg-C, endopeptidasa Asp-N, caspasas, quimotripsina, clostripaina, enterocinasa, granza B, glutamil endopeptidasa, pepsina, prolina-endopeptidasa, proteinasa K, peptidasa estafilocócica I, termolisina, trombina y tripsina.

35 **Formulaciones de composición**

Las composiciones de la presente invención son combinadas con un portador farmacéuticamente aceptable y son administradas preferentemente por vía oral. Las dosis unitarias de estas composiciones pueden presentarse en forma de preparaciones sólidas, tal como comprimidos, píldoras, cápsulas, comprimidos oblongos, polvos, gránulos y obleas, o preparaciones líquidas, tal como suspensiones o dispersiones en vehículos acuosos o no acuosos, tal como jarabes y elixires.

Las composiciones de la presente invención contienen opcionalmente componentes además de la bacteria *Bacillus coagulans*. Los componentes adicionales incluyen suplementos de enzimas, agentes antidiarreicos, agentes antigás, laxantes, fibras dietéticas, aminoácidos aislados, vitaminas, minerales, antibióticos y agentes tampón.

45 Los suplementos de enzimas incluyen una lactasa, una fructosa, una lipasa y una proteasa. Generalmente, un suplemento de enzimas es proporcionado en una cantidad que excede la cantidad de la enzima contenida o producida por la bacteria *Bacillus coagulans* proporcionada en la composición terapéutica. Por ejemplo, un suplemento de lactasa es una cantidad de lactasa purificada administrada para digerir la lactosa presente en el tracto gastrointestinal de un mamífero.

50 Los agentes antidiarreicos incluyen cualquier compuesto que reduzca la diarrea, tal como por la reducción del contenido de agua en las heces. Los agentes antidiarreicos preferentes incluyen la loperamida (tal como loperamida HCL), atapulgita, extracto de Croton Lechleri y policarbófilo de calcio.

Los agentes antigás incluyen compuestos que reducen el gas en el tracto gastrointestinal de un mamífero. Los agentes antigás preferentes incluyen enzima α -galactosidasa, simeticona, carbonato de calcio, hidróxido de aluminio o hidróxido de magnesio.

Los laxantes incluyen cualquier compuesto que aumente la densidad de las heces o la frecuencia de las evacuaciones. Los laxantes preferentes incluyen senósidos, docusato sódico, hidróxido de magnesio y una fibra dietética. Los senósidos incluyen glicósidos de hidroxiantraceno tal como senósidos A, B, C o D, generalmente obtenidos de la cáscara pulverizada de *Cassia acustifolia*. Las fibras dietéticas ejemplares incluyen la cáscara de psilio, fibra de soja, fibra de cítricos, fibra de remolacha, harina de semillas de calabaza, lino molido, cáscara de nuez negra, fibra de arroz, polisacáridos hidrocoloidales, cáscara de nuez y cáscara de maní.

Los aminoácidos aislados incluyen alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Preferentemente, el aminoácido aislado es lisina.

Las composiciones son utilizables en forma de medicinas, alimentos y bebidas, incluyendo suplementos, alimentos médicos, alimentos saludables, nutracéuticos y suplementos dietéticos, según las indicaciones de un profesional de la salud. Un alimento médico es prescrito por un médico cuando un paciente tiene necesidades nutricionales especiales para tratar una enfermedad o condición de salud tal como el SII o la malabsorción de carbohidratos, y el paciente está bajo el cuidado continuo del médico.

En la preparación de las formas de dosificación de unidades sólidas, las composiciones de la presente invención (por ej., bacterias *Bacillus coagulans*) son mezcladas con agentes de carga o portadores sólidos convencionales, tal como sílica, almidón, talco, fosfato de calcio, sulfato de calcio, estearato de calcio, estearato de magnesio, ácido esteárico, sorbitol, manitol, gelatina, gomas naturales o sintéticas, tal como carboximetilcelulosa, metilcelulosa, alginatos, dextranos, goma arábiga, goma karaya, goma garrofín, tragacanto, y otros portadores convencionales. Además, pueden ser empleados otros excipientes tal como diluyentes, aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, colores, y agentes saborizantes.

Las formas líquidas adecuadas de la presente invención pueden ser preparadas incorporando la lactasa en dispersiones, suspensiones o soluciones acuosas o no acuosas. Los portadores líquidos convencionales tal como glicerol y glicoles comestibles, aceites comestibles tal como aceite de semilla de algodón, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de cacahuate, aceite de cártamo y otros aceites de triglicéridos, y agentes de dispersión o suspensión tal como gomas naturales y sintéticas mencionadas anteriormente.

Los procedimientos convencionales son empleados para preparar las formas sólidas y líquidas de la presente invención. Las técnicas adecuadas están descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Chapters 83 and 89 (1990).

Las composiciones son producidas en polvo o gránulos para ser mezcladas directamente con productos alimenticios consumidos por individuos que sufren de SII u otras enfermedades de malabsorción de carbohidratos. Por ejemplo, en el caso de un niño con intolerancia a la lactosa, una cantidad adecuada de la composición que contiene *Bacillus coagulans* y lactasa, en forma de polvo o gránulos, es añadida directamente a la leche u otros alimentos consumidos por el niño. En el caso de un animal, tal como un mamífero, que normalmente requiere un régimen dietético de suero, las composiciones de la presente invención pueden ser añadidas directamente al suero.

La composición contiene opcionalmente un revestimiento entérico, tal como un revestimiento de una bacteria *Bacillus coagulans* como un célula vegetativa. Esto revestimiento permanece intacto en el estómago, pero se disuelve y libera la célula vegetativa una vez que alcanza el ambiente más neutro del intestino delgado. Los revestimientos entéricos adecuados incluyen ftalatos de acetato de amilosa, copolímero de ácido estireno-maleico, succinato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, ésteres de glicerol, ésteres de poliglicerol, ceras de parafina, cera de carnauba, gelatina formalizada, goma laca y ceras vegetales hidrogenadas, tal como aceite de ricino y aceite de semilla de algodón hidrogenados. Otros revestimientos entéricos adecuados son desvelados en Liebernan, H. A. *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Vol. 3, pp. 114-116 (1990). El revestimiento entérico es aplicado mediante técnicas convencionales de revestimiento de partículas. Si la célula vegetativa es granulada con otros excipientes, el gránulo resultante también puede ser revestido con el material entérico.

Diagnóstico del SII en mamíferos

Las directrices para el diagnóstico del SII promulgadas bajo los criterios de Roma se centran en los síntomas subjetivos, incluyendo los síntomas continuos o recurrentes de dolor o malestar abdominal que pueden ser aliviados con la defecación, un cambio en la frecuencia o consistencia de las heces, y en que, al menos el 25 por ciento de los casos, el paciente experimenta una alteración en la frecuencia de las heces (más de 3 deposiciones al día o menos de 3 deposiciones a la semana), una alteración en la forma de las heces (heces duras o sueltas acuosas o mal formadas), paso de heces mucosas o hinchazón (sensación de distensión abdominal). La presente invención proporciona un procedimiento de diagnóstico del síndrome del intestino irritable en un paciente, en base a la mala absorción de carbohidratos por parte del paciente. Es identificado un paciente que tiene uno o más síntomas de SII (por ejemplo, un síntoma clasificado según los Criterios de Roma) y es obtenida una muestra biológica de dicho paciente identificado. La muestra biológica puede ser, por ejemplo, materia fecal, orina, sangre, suero, plasma, o aliento. Después, es determinada la cantidad de un producto de una enzima gastrointestinal en la muestra del paciente.

Por ejemplo, la prueba de gas hidrógeno en el aliento es usada para medir el gas hidrógeno, que se produce como resultado de la descomposición de los carbohidratos no absorbidos en el tracto gastrointestinal. La cantidad del producto en la muestra obtenida por el paciente es comparada con una cantidad de referencia de un producto de una enzima gastrointestinal. Esta cantidad de referencia es obtenida de un paciente o de una pluralidad de pacientes que se sabe que no tienen SII u otros trastornos relacionados con la mala absorción de carbohidratos. Una alteración en la cantidad de prueba con relación a la cantidad de referencia indica que el paciente tiene síndrome del intestino irritable. Por ejemplo, un aumento del gas de hidrógeno en una muestra obtenida por el paciente en comparación con una muestra de referencia, medida como ha sido descrito anteriormente, indica una mala absorción de carbohidratos en el tracto gastrointestinal del paciente, lo que lleva al diagnóstico de SII.

Administración terapéutica

Un régimen terapéutico es llevado a cabo por la identificación de un individuo, por ejemplo, un paciente humano que padece (o está en riesgo de padecer) SII y la proporción de un tratamiento. Por ejemplo, a los pacientes caracterizados porque producen cantidades inferiores a las normales de enzimas que degradan los carbohidratos, tal como lactasa o fructosa, u otras enzimas digestivas tal como amilasas, lipasas o proteasas, les es diagnosticado que padecen o tienen riesgos de padecer SII, como es descrito a continuación. Es administrada al paciente una composición que incluye bacterias *Bacillus coagulans*, tal como por vía oral, de manera que se reduce un síntoma del SII. En realizaciones de la invención, el paciente es una mujer, tal como una mujer postmenstrual, ya que los síntomas del SII suelen ser más frecuentes y/o graves en las mujeres postmenstruales. La paciente puede ser una mujer postmenopáusica. La composición que incluye las bacterias *Bacillus coagulans* es proporcionada antes o de forma simultánea con la aparición de uno o más síntomas del SII.

Antes de la presente invención, el tratamiento dietético del SII y otras enfermedades asociadas con la malabsorción de carbohidratos se ha centrado en el control dietario de la ingesta de carbohidratos de un paciente. La invención proporciona un procedimiento de tratamiento dietético de la absorción de carbohidratos de un individuo, por la identificación de un paciente que tenga un síntoma de malabsorción de carbohidratos, y la proporción al individuo de bacterias *Bacillus coagulans*, que luego colonizan el tracto gastrointestinal del individuo, y hacen que la absorción de carbohidratos del individuo sea modulada. La colonización de la bacteria *Bacillus coagulans* en el intestino delgado y grueso del individuo aumenta la absorción de los carbohidratos de la dieta, incluyendo la fructosa y la lactosa, reduciendo así el dolor, hinchazón abdominal, flatos, diarrea, estreñimiento y otros síntomas de la malabsorción de carbohidratos.

Los procedimientos permiten a un médico clínico adaptar el tratamiento de malabsorción de carbohidratos para manejar con mayor eficacia la salud y el bienestar del paciente. Cuando un paciente se presenta con uno o más síntomas de SII, el médico es capaz de determinar el grado de malabsorción de carbohidratos del paciente midiendo el producto de una enzima gastrointestinal tal como la fructosa o la lactasa en una muestra derivada del paciente. La medición del producto enzimático es realizada por procedimientos conocidos en la técnica y desvelados en la presente memoria, incluyendo las pruebas de hidrógeno y metano en el aliento. Luego, el médico proporciona las composiciones descritas en la presente memoria en cantidades que reducen o eliminan uno o más síntomas del SII.

Un sistema terapéutico para tratamiento, reducción y/o control de la malabsorción de carbohidratos se presenta en forma de un empaque que contiene una composición terapéutica que contiene *B. coagulans* y un suplemento de enzima digestiva en combinación con material de embalaje. El material de embalaje incluye una etiqueta o instrucciones de uso de los componentes del empaque. Las instrucciones describen el uso del componente embalado tal y como es descrito en la presente memoria para los procedimientos o composiciones de la invención.

A modo de ejemplo, y no de limitación, un sistema puede comprender una o más dosis unitarias de una composición de acuerdo con la presente invención. Alternativamente, el sistema puede contener cantidades a granel de una composición. La etiqueta contiene instrucciones para uso de la composición terapéutica en dosis unitarias o a granel, según sea adecuado, y también puede incluir información relativa al almacenamiento de la composición, indicaciones de la enfermedad, dosis, vías y modos de administración y otra información similar. Además, en función del uso particular contemplado, el sistema puede contener opcionalmente, ya sea combinado o en empaques separados, uno o más de los siguientes componentes: oligosacáridos bifidógenos, aromatizantes, portadores y componentes similares. Una realización particularmente preferente comprende empaques de dosis unitaria de bacterias *Bacillus coagulans*, para su uso en combinación con un producto líquido convencional, junto con instrucciones para combinar las bacterias con el producto líquido, para uso en un procedimiento terapéutico.

Los procedimientos y composiciones descritos en la presente memoria son útiles en el tratamiento de la enfermedad celíaca. La enfermedad celíaca es un trastorno hereditario causado por la sensibilidad a la fracción de gliadina del gluten, una proteína del cereal que se encuentra en el trigo y el centeno y menos en la cebada y la avena. La prevalencia de la enfermedad celíaca oscila de aproximadamente 1:300 en el suroeste de Irlanda a aproximadamente 1:5.000 en América del Norte. No existe un solo marcador genético. La enfermedad celíaca puede ser asintomática, pero la mayoría de los pacientes sufren de esteatorrea que puede oscilar de leve a masiva. Los síntomas suelen estar ausentes hasta que son ingeridos alimentos que contienen gluten. Entonces el individuo comienza a evacuar heces pálidas, malolientes y voluminosas, y experimenta una dolorosa hinchazón abdominal. Por lo tanto, se hace un diagnóstico sobre la base de los síntomas y signos, reforzado por estudios de laboratorio y de rayos X, y es confirmado

por la biopsia que muestra una mucosa plana y por la subsiguiente mejora clínica e histológica en una dieta sin gluten. Además, la prueba de la D-xilosa de 5 g suele ser anormal, y los pacientes no tratados tienen un nivel bajo de C3 y C4, que aumenta con la abstención del gluten, y una IgA sérica normal o aumentada; en 33% a 50%, la IgM es reducida.

5 Ejemplos

Ejemplo 1. Preparación de *Bacillus coagulans*

I. Preparación de *Bacillus coagulans* vegetativas

10 *Bacillus coagulans* es aeróbica y facultativa, y es cultivada típicamente a un pH de 5,7 a 6,8, en un caldo nutritivo que contiene hasta 2% (en peso) de NaCl, aunque no es requerido NaCl ni KCl para su crecimiento. Un pH de aproximadamente 4,0 a 7,5 es óptimo para el inicio de la esporulación (es decir, la formación de esporas). Las bacterias crecen de manera óptima entre 20 y 45°C, y las esporas pueden soportar la pasteurización. Además, las bacterias muestran un crecimiento facultativo y heterótrofo usando una fuente de nitrato o sulfato. Sin embargo, las cepas de *Bacillus coagulans* y sus necesidades de crecimiento han sido descritas anteriormente (véase, *por ejemplo*, Baker, D. et al, 1960. Can. J. Microbiol. 6: 557-563; Nakamura, H. et al, 1988. Int. J. Svst. Bacteriol. 38: 63-73). Además, diversas cepas de *Bacillus coagulans* también pueden ser aisladas de fuentes naturales (*por ejemplo*, muestras de suelo tratadas térmicamente) usando procedimientos bien conocidos (véase, *por ejemplo*, Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Vol. 2, p. 1117, Sneath, P.H.A. et al., eds., Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 1986).

20 *Bacillus coagulans* es cultivada en diversos medios, aunque ha sido demostrado que ciertas condiciones de crecimiento son más eficaces para producir un cultivo que produzca un alto nivel de esporulación. Por ejemplo, ha sido demostrado que la esporulación aumenta si el medio de cultivo incluye 10 mg/l de sulfato de MgSO₄, lo que da una relación de esporas a células vegetativas de aproximadamente 80:20. Además, ciertas condiciones de cultivo producen una spora bacteriana que contiene un espectro de enzimas metabólicas particularmente adecuadas para la presente invención (es decir, la producción de ácido láctico y enzimas para el aumento de la actividad probiótica y la biodegradación). A pesar de que las esporas producidas por estas condiciones de cultivo mencionadas anteriormente son preferentes, otras condiciones de cultivo compatibles que producen esporas viables de *Bacillus coagulans* pueden ser usadas en la práctica de la presente invención.

30 Los medios adecuados para el cultivo de *Bacillus coagulans* incluyen: TSB (caldo de soja triptico), GYE (caldo de extracto de levadura de glucosa), y NB (caldo de nutrientes), todos bien conocidos dentro del campo y disponibles de una variedad de fuentes. Son especialmente preferentes los suplementos de medios que contienen digeridos enzimáticos de tejidos de aves de corral y/o peces, y que contienen levadura alimentaria. Un suplemento preferente produce un medio que contiene al menos 60% de proteínas, y aproximadamente 20% de carbohidratos complejos y 6% de lípidos. Los medios pueden ser obtenidos de diversas fuentes comerciales, en particular de DIFCO (Newark, NJ); BBL (Cockeysville, MD); y Troy Biologicals (Troy, MD).

II. Preparación de esporas de *Bacillus coagulans*

35 Las esporas de bacterias *Bacillus coagulans* Hammer secas (Núm. ATCC 31284) fueron preparadas de la siguiente manera. Aproximadamente 1×10^7 esporas fueron inoculadas en un litro de medio de cultivo que contenía: 30 g (peso/vol.) de Caldo de Soja Triptico; 10 g de un digerido enzimático de tejido de aves y peces; y 10 g de MnSO₄. El cultivo fue mantenido durante 72 horas en un entorno de alto contenido de oxígeno a 37°C para producir un cultivo de aproximadamente 6×10^9 células/gramo de cultivo. Después, el cultivo fue centrifugado para eliminar el medio de cultivo líquido y la pasta bacteriana resultante fue suspendida nuevamente en 100 ml de agua estéril y 20% de malto-dextrina y fue liofilizada. Las bacterias liofilizadas fueron molidas hasta ser convertidas en un polvo fino mediante el uso de metodologías estándar de buenas prácticas de fabricación (GMP).

Ejemplo 2. Formulaciones terapéuticas

Las siguientes formulaciones fueron fabricadas y probadas.

Formulación #1	
Ingrediente activo; cantidad	Ingredientes inactivos (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 27 mg (405 millones de UFC)	Celulosa microcristalina; 292 mg
lactasa; 3.120 UI	
Formulación #2 (comprimido masticable)	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 27 mg (405 millones de UFC)	Celulosa microcristalina; 65,7 mg
lactasa; 3.120 UI	L-lisina; 35 mg
	Fosfato dicálcico sin moler; 170 mg
	Almidón glicolato sódico; 10mg
	Cabosil M-5®; 5 mg
	FD&C Blue #1 Lake Dye; 0,13mg
	Ácido esteárico; 4 mg
Formulación #3 (comprimido masticable)	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 54 mg (810 millones de UFC)	L-lisina; 35 mg
	Azúcar comprimible (Di-pac); 378 mg
	Manitol; 350mg
	Saborizante-906.300(Frambuesa); 5mg
	FD&C Blue #1 Lake Dye; 0.2 mg
	Ácido esteárico; 8 mg
Formulación #4 (comprimido oblongo)	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 54 mg (810 millones de UFC)	L-lisina; 35 mg
	Azúcar sin moler (Di-Cal); 148 mg

ES 2 806 098 T3

	Celulosa microcristalina; 65mg
	Cab-O-Sil M5P®; 5mg
	FD&C Blue #1 Lake Dye; 0,2 mg
	Estearato de magnesio: 3,5 mg.
Formulación #5	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional)
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	Fosfato de calcio dibásico
Loperamida HCl; 2 mg	Metilcelulosa
	Estereato de manganeso
	Blue Lake Dye
Formulación #6	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional)
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	Fosfato de calcio dibásico
Senósidos; 15mg	Metilcelulosa
	Estearato de Manganeso
	Blue Lake Dye
Formulación #7	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional)
Lactasa; 3.000 unidades	Celulosa microcristalina
Fructosa; 2.000 unidades	Estearato de Manganeso
	Blue Lake Dye #1
	Saborizante de frambuesa
Formulación #8	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
Lactasa; 3.000 unidades	Celulosa microcristalina

ES 2 806 098 T3

Fructosa; 2.000 unidades	Estearato de Manganeso
	Blue Lake Dye #1
	Cáscaras de Psilio; 3 g
Formulación #9	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional)
Lactasa; 3.000 unidades	Celulosa microcristalina
Fructosa; 2.000 unidades	Estearato de Manganeso
Loperamida; 2 mg	Blue Lake Dye #1
Formulación #10	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional)
Lactasa; 3.000 unidades	Celulosa microcristalina
Fructosa; 2.000 unidades	Estearato de Manganeso
Senósidos; 15 mg	Blue Lake Dye #1
Formulación #11	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	L-lisina; 125mg
	Manitol; 350 mg
	Estearato de manganeso; 8 mg
	Blue Lake Dye; 0,2 mg
	Nu Tab®; 358mg
	Motas de azúcares reductores; 16mg
	Saborizante-906.300 (Frambuesa); 4mg
Formulación #12	

ES 2 806 098 T3

Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	L-lisina
	celulosa
	Estearato de manganeso
	Hidroxipropilmetilcelulosa
	Maltodextrina
	Saborizante
	FD&C Blue Lake Dye
	Motas de sacarosa reductora
Formulación #13	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	Estearato de manganeso
	Metilcelulosa
	FD&C Blue Lake Dye
Formulación #14	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	Estearato de manganeso
Lactasa; 3.000 UI	Metilcelulosa
Fructosa; 3.000 UI	
Lipasa; 1.500 UI	
Formulación #14 (oblea)	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 800 millones de CFU	Sorbitol,
	Metilcelulosa
	Fibra de fructano; 4g
	Almidón de maíz

Formulación #15 (oblea)	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 400 millones de CFU	Sorbitol,
	Metilcelulosa
	Fibra de fructano; 4g
	Almidón de maíz
Formulación #16 (comprimido masticable)	
Ingrediente activo; cantidad	Ingrediente inactivo (opcional); cantidad
<i>Bacillus coagulans</i> ; 100 millones de CFU	Goma guar parcialmente hidrogenada; 6 g
	Azúcar comprimido
	Almidón alimenticio modificado
	Sucralosa

Ejemplo 3. Alivio de síntomas del síndrome del intestino irritable (SII) con una composición que contiene bacterias *Bacillus coagulans*

- 5 Fue investigado el efecto de las formulaciones de *Bacillus coagulans* mencionadas anteriormente, por ejemplo, la Formulación #3, en pacientes que sufren del síndrome del intestino irritable (SII). Estos pacientes estaban experimentando una pérdida significativa de la calidad de vida debido a los diversos grados de gravedad de los síntomas del SII.

Población de pacientes:

- 10 Pacientes masculinos y femeninos, tanto caucásicos como afroamericanos, fueron seleccionados aleatoriamente para este ensayo. Treinta pacientes fueron seleccionados para este estudio. La relación de mujeres a hombres fue de tres a uno, con un total de 20 mujeres y 6 hombres en este primer estudio. Las edades oscilaban entre 18 y 32 años. El estudio fue llevado a cabo durante un período de 9 meses. La voluntad de los pacientes para entrar en el estudio era debido al hecho de que su calidad de vida diaria se veía afectada por los síntomas. Cada paciente ha informado que experimentaba síntomas como tal diarrea, estreñimiento, alternancia de diarrea y estreñimiento, e hinchazón, ya sea solos o en combinación con otros síntomas.
- 15

Tratamiento de estudio:

- 20 Fue administrado un comprimido masticable por día. Cada dosis contenía 810 millones de unidades formadoras de colonias de bacterias *Bacillus coagulans*. Una vez identificados y seleccionados los participantes aplicables, fueron proporcionados los comprimidos de la Formulación #3 y se les instruyó tomar un comprimido por día a cualquier hora, de día o de noche, con o sin alimentos. Los pacientes fueron revisados a las dos, cuatro y seis semanas y cada mes después durante un período de nueve meses en total.

Resultados:

- 25 Siguiendo el régimen de tratamiento, cada paciente completó un cuestionario. Las preguntas incluían la calificación de sus síntomas del SII y su calidad de vida en general en el día a día, siendo las respuestas a las preguntas del estudio evaluadas en una escala de uno a diez. La respuesta inicial de los pacientes fue significativa, en el sentido de

que del 80% de los encuestados informaron que su calidad de vida en el día a día había mejorado sustancialmente (más del 50%) con la eliminación de la gravedad de los síntomas de la diarrea, el estreñimiento y la hinchazón. En un período de cuatro a seis meses, el 70% de estos pacientes mantuvieron la reducción significativa de los síntomas y la correspondiente mejora de la calidad de vida.

- 5 Del 20% restante de los encuestados, el 10% mostró una mejora de entre 30% y 50%, mientras que sólo el 10% no mostró ninguna mejora. El 10% de los pacientes que mostraron una mejora menor informaron una mejora satisfactoria en su estilo de vida después de cuatro a seis meses.

Ejemplo 4. Estudio retrospectivo del síndrome del intestino irritable (SII) con una composición que contiene bacterias *Bacillus coagulans*

- 10 Fue investigado retrospectivamente el efecto de la Formulación #3 en los individuos que informaron sufrir de síndrome del intestino irritable (SII). La encuesta retrospectiva fue enviada a 3.000 consumidores, y respondieron 217, de los cuales 187 eran mujeres (86,2%) y 30 eran hombres (13,8%). La edad promedio fue de 54 años con un rango general de 18 a 86 años.

- 15 Se pidió a los participantes del estudio que calificaran la gravedad de los síntomas después de tomar la Formulación #3 en una escala de 0 a 5, en la que el valor "0" era sin síntomas y "5" era síntomas graves. Los síntomas encuestados eran diarrea, calambres, hinchazón, estreñimiento, dolor abdominal, náuseas y urgencia. Las respuestas promedio de los encuestados son las siguientes.

Diarrea 1,3

Calambres 1,3

- 20 Hinchazón 1,6

Estreñimiento 1,4

Dolor abdominal 1,4

Náuseas 0,5

Urgencia 1,1

- 25

Ejemplo 5. Estudio retrospectivo de la intolerancia a la lactosa con una composición que contiene bacterias *Bacillus coagulans* y un suplemento de lactasa

- 30 Fue investigó retrospectivamente el efecto de la Formulación #1, una composición que contenía bacterias *Bacillus coagulans* y un suplemento de lactasa, en pacientes que sufren de intolerancia a la lactosa. Estos pacientes estaban experimentando una pérdida significativa de calidad de vida debido a diversos grados de gravedad de los síntomas de la intolerancia a la lactosa y otras intolerancias alimentarias.

En la encuesta retrospectiva fueron seleccionados aleatoriamente 108 usuarios de la Formulación #1 de una población de más de 1.000 usuarios.

- 35 Se pidió a los participantes del estudio que calificaran la satisfacción del producto de la Formulación #1 en una escala de 1 a 5, siendo el valor "5" excelente, "4" muy bueno, "3" bueno, "2" regular y "1" malo. Las respuestas promedio de los individuos que respondieron son las siguientes.

Calificación 5 (Excelente)	56,5% de los usuarios
Calificación 4 (Muy bueno)	25,9% de los usuarios
Calificación 3 (Bueno)	12,1% de los usuarios
Calificación 2 (Regular)	3,7% de los usuarios
Calificación 1 (Malo)	1,8% de los usuarios

- 40 Cabe destacar que el 94,4% de los usuarios indicaron que la Formulación #1 era más eficaz que otros tratamientos para la intolerancia a la lactosa, incluyendo los productos que contienen enzima lactasa (por ej., Lactaid®, que contiene 3.000 UI de lactasa por cápsula o Lactaid Ultra®, que contiene 9.000 UI de lactasa por cápsula), productos que

contienen bacterias (por ej., DairyCare®, que contiene *Lactobacillus acidophilus*), o productos lácteos, tal como leche de vaca, pretratada para eliminar la lactosa (por ej., leche Lactaid®, DairyEase®). Además, el 92,5% de los usuarios se encontraban usando el producto con regularidad cuando fue realizado el estudio. La duración promedio del uso de la Formulación #1 fue de 14 meses.

- 5 Se pidió a los participantes del estudio que calificaran la severidad de los síntomas antes y después de tomar la Formulación #1 en una escala de 1 a 5, siendo el valor "1" la ausencia de síntomas y "5" los síntomas más severos. Los síntomas encuestados fueron gases, hinchazón, diarrea, dolor abdominal y estreñimiento. Antes del uso de la Formulación #1, las respuestas promedio de los participantes después del consumo de productos lácteos son las siguientes.
- 10 Gas: 2,9
 Hinchazón 3,1
 Diarrea 3,5
 Dolor abdominal 4,4
 Estreñimiento 3,1
- 15 Otros 2,4

Después del uso de la Formulación #1 al consumir productos lácteos, los individuos que respondieron calificaron su cambio en los síntomas de la siguiente manera. Los números en cada categoría representan el número de individuos que dieron respuestas.

Síntoma	Peores síntomas	Los mismos síntomas	Ligeramente mejor	Enormemente mejorado	Sin síntomas
Gas	5	18	12	57	16
Hinchazón	3	19	14	51	22
Diarrea	0	9	22	61	16
Dolor abdominal	5	19	11	63	13
Estreñimiento	0	21	13	52	21
Otros	3	6	8	19	23

20

Ejemplo 6: Metabolismo de *Bacillus coagulans* de carbohidratos de la dieta

Bacillus coagulans fue analizado usando un ensayo fenotípico (cinético) con diversos carbohidratos como fuente de carbono. Un ensayo fenotípico Omnilog indicó que la bacteria *Bacillus coagulans* tiene la habilidad innata de metabolizar intracelularmente numerosos carbohidratos de la dieta. Esta actividad era independiente de la digestión del carbohidrato, por ejemplo, lactosa, por una enzima extracelular secretada bacteriológicamente, tal como lactasa. Por ejemplo, la degradación enzimática de la fructosa por una enzima extracelular segregada es un proceso de múltiples etapas intermedias que es lento e ineficiente. En cambio, el uso metabólico inmediato de la fructosa y de azúcares similares es rápido y no depende de la cantidad de enzima producida por una comunidad microbiana colonizada. Como es mostrado en la Figura 1, las bacterias *Bacillus coagulans* que entran en contacto con diversos azúcares de la dieta comienzan a metabolizar estos azúcares en aproximadamente 10-25 minutos, en comparación con una muestra de control negativa. Las bacterias *Bacillus coagulans* metabolizaron eficientemente la lactosa, la fructosa, el sorbitol, la maltosa, la sacarosa, la inulina y el manano.

El rápido consumo y metabolismo intracelular de los azúcares de la dieta por las bacterias *Bacillus coagulans* impide que los azúcares no digeridos lleguen al intestino grueso, sitio en el que son sometidos a una fermentación secundaria por las bacterias. Esta fermentación secundaria da lugar al síndrome del intestino irritable, la intolerancia a la lactosa y otros estados patológicos asociados con la malabsorción de carbohidratos. Cuando se dispone de sustrato adicional (en forma de azúcares alimentarios), el aumento de la carga de carbohidratos ralentiza un proceso estrictamente enzimático mediado por enzimas extracelulares secretadas por bacterias. Sin embargo, cuando la presencia de un organismo microbiano eficiente tal como bacterias *Bacillus coagulans* usa estos azúcares, la biomasa o el número de

35

organismos en el intestino aumenta proporcionalmente a la cantidad de carbohidrato digerido y estas bacterias metabolizan los carbohidratos de la dieta ingeridos.

Otras realizaciones

- 5 Aunque en la presente memoria han sido desveladas en detalle realizaciones particulares, ha sido a modo de ejemplo, únicamente por propósitos ilustrativos, y no se pretende limitar el alcance de las reivindicaciones adjuntas a continuación. Se presume que la selección del material de partida del ácido nucleico, el clon de interés, o el tipo de biblioteca es una cuestión de rutina para un experto en la técnica con el conocimiento de las realizaciones descritas en la presente memoria.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de esporas de *Bacillus coagulans* Hammer en la fabricación de un medicamento para reducir los síntomas del síndrome del intestino irritable (SII) en un paciente que sufre del síndrome del intestino irritable, en el que dicho *Bacillus coagulans* es seleccionado del grupo que consiste en la cepa de *Bacillus coagulans* Hammer con Núm. de Adquisición ATCC 31284, y la cepa GBI-30 (Número de Designación ATCC PTA-6086).
2. Una composición que comprende esporas de *Bacillus coagulans* Hammer para uso en la reducción de los síntomas del síndrome del intestino irritable en un paciente que sufre del síndrome del intestino irritable, en el que dicho *Bacillus coagulans* es seleccionado del grupo que consiste en la cepa de *Bacillus coagulans* Hammer con Núm. de Adquisición ATCC 31284, y la cepa GBI-30 (Número de Designación ATCC PTA-6086).
- 10 3. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1 o una composición de acuerdo con la reivindicación 2 para el uso de la reivindicación 2 en el que el medicamento o la composición respectivamente es para una administración simultánea con la aparición de dichos síntomas del SII.
- 15 4. El uso o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho medicamento o composición respectivamente comprende además un suplemento de enzimas, en el que dicha enzima es seleccionada del grupo que consiste en una lactasa, una fructosa, una lipasa, una amilasa y una proteasa.
- 20 5. El uso de la reivindicación 1 o la composición de la reivindicación 2 para el uso de la reivindicación 2, en el que dichos síntomas son: diarrea, estreñimiento, alternancia de diarrea y estreñimiento, gases, hinchazón, urgencia y dolor abdominal (molestias intestinales).
6. El uso o composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dichas esporas de *Bacillus coagulans* Hammer son proporcionadas en una concentración de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{10} esporas viables.
7. El uso de la reivindicación 1, o la composición de la reivindicación 2 para el uso de la reivindicación 2, en el que dicha composición comprende además:
 - 25 (i) un agente antidiarreico, en el que dicho agente antidiarreico es seleccionado opcionalmente del grupo que consiste en loperamida, atapulgita, extracto de Croton Lechleri y policarbófilo de calcio;
 - (ii) un agente laxante, en el que dicho agente laxante es seleccionado opcionalmente del grupo que consiste en un senósido, un docusato sódico, un hidróxido de magnesio, y una fibra dietética; o
 - (iii) un agente antigás, en el que dicho agente antigás es seleccionado opcionalmente del grupo de la enzima α -galactosidasa, la simeticona, el carbonato de calcio, el hidróxido de aluminio y el hidróxido de magnesio.
- 30 8. El uso de la reivindicación 1 o la composición de la reivindicación 2 para el uso de la reivindicación 2, en el que dicho *Bacillus coagulans* es la cepa GBI-30 (Número de Designación ATCC PTA-6086).

FIGURA 1.

