

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037069**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.02.02

(51) Int. Cl. **A61K 35/74** (2015.01)
A61K 9/19 (2006.01)

(21) Номер заявки
201892701

(22) Дата подачи заявки
2017.07.13

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ БАКТЕРИИ РОДА BLAUTIA, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА

(31) 1612190.7; 1616016.0; 1616018.6;
1703552.8; 1703548.6
(32) 2016.07.13; 2016.09.20; 2016.09.20;
2017.03.06; 2017.03.06
(33) GB
(43) 2019.04.30
(86) PCT/GB2017/052077
(87) WO 2018/011594 2018.01.18

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
4Д ФАРМА ПиЭлСи (GB)

(72) Изобретатель:
**Берналье-Донадий Анник, Крузе
Лорсен, Абузи Клоэ (FR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-2016184370
US-A1-2010247489
WO-A1-2012142605
WO-A1-0207741
WO-A1-0185187
WO-A1-2016057671

C. LIU ET AL: "Reclassification of Clostridium coccoides, Ruminococcus hansenii, Ruminococcus hydrogenotrophicus, Ruminococcus luti, Ruminococcus productus and Ruminococcus schinkii as Blautia coccoides gen. nov., comb. nov., Blautia hansenii comb. nov., Blautia hydrogenotrophica comb. nov., Blautia luti comb. nov", INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY, vol. 58, no. 8, 1 August 2008 (2008-08-01), pages 1896-1902, XP055005236, ISSN: 1466-5026, DOI:10.1099/ijs.0.65208-0, the whole document

(57) Изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей бактериальный штамм Blautia hydrogenotrophica DSMZ 14294, имеющий последовательность гена 16s рПНК SEQ ID NO: 5 и/или штамм бактерий рода Blautia, имеющий последовательность гена 16s рПНК, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 5, для лечения или предотвращения диареи и/или запора у субъекта.

B1**037069****037069****B1**

Область техники

Данное изобретение относится к области композиций, содержащих бактериальные штаммы, выделенные из пищеварительного тракта млекопитающих, и использованию таких композиций для лечения болезни.

Известный уровень техники

Считается, что кишечник человека *in utero* является стерильным, но сразу после рождения он подвергается воздействию большого количества микроорганизмов от матери и из окружающей среды. После этого происходит динамический период микробной колонизации и сукцессии, зависящий от таких факторов, как способ родов, окружающая среда, питание и генотип хозяина, которые коллективно влияют на состав микробиоты кишечника, особенно в ранний период жизни. Впоследствии микробиота стабилизируется и становится схожей с микробиотой взрослых людей [1]. Микробиота кишечника человека содержит более 1500 разных филотипов, среди которых количественно доминируют два основных бактериальных типа (филума) - Bacteroidetes и Firmicutes [2-3]. Успешные симбиотические отношения, возникающие в результате бактериальной колонизации кишечника человека, привели к развитию широкого спектра метаболических, структурных, защитных и других полезных функций. Повышенная метаболическая активность колонизированного кишечника обеспечивает разложение иначе трудноперевариваемых компонентов пищи с образованием побочных продуктов, являющихся важным источником питательных веществ для хозяина и обеспечивающих дополнительные полезные эффекты для здоровья. Схожим образом, иммунологическая важность микробиоты кишечника является общепризнанной и была подтверждена на примере безмикробных животных, имеющих расстройства иммунной системы, которая функционально восстанавливается после введения комменсальных бактерий [4-6].

Значительные изменения состава микробиоты были задокументированы при желудочно-кишечных расстройствах, таких как воспалительная болезнь кишечника (ВБК). Например, уровни бактерий кластера Clostridium XIVa и кластера Clostridium XI (*F. prausnitzii*) у пациентов с ВБК понижены, в то время как численность *E. coli* увеличивается, что позволяет предположить сдвиг баланса между симбионтами и патобионтами в кишечнике [7-11].

В знак признания потенциального положительного эффекта, который определенные бактериальные штаммы могут оказывать на кишечник животного, различные штаммы были предложены для использования при лечении разных болезней (см., например, [12-15]). Ряд штаммов, включая преимущественно штаммы Lactobacillus и Bifidobacterium, были предложены для использования при лечении различных кишечных расстройств (см. обзор [16]). Штаммы рода Blautia были также предложены для использования при модулировании бактериального баланса пищеварительной экосистемы у пациентов с СРК (синдром раздраженного кишечника) (WO 01/85187). Однако взаимосвязи между различными бактериальными штаммами и разными болезнями и точные эффекты влияния конкретных бактериальных штаммов на кишечник и на системном уровне, и на какие-либо конкретные типы болезней изучены плохо.

Существует потребность в изучении потенциальных эффектов кишечных бактерий с целью разработки новых методов лечения, использующих кишечные бактерии.

US 2010/0247489 описывает использование минеральных питательных веществ для лечения расстройств пищеварения. US' 789 предлагает также возможное использование многочисленных разных родов бактерий для предотвращения широкого спектра желудочно-кишечных симптомов, но не связывает какие-либо бактерии с какими-либо болезнями или симптомами.

WO 2016/086206 выдвигает предположение, что бактерии порядка Clostridiales могут быть использованы для лечения или предотвращения различных состояний, но не связывает какие-либо бактерии с какими-либо болезнями или симптомами.

WO 2012/142605 предлагает возможность лечения ряда разных болезней комбинацией микроорганизмов. WO'605 предлагает возможное использование большого числа бактериальных видов, но не содержит описания того, каким образом какой-либо из предложенных в WO'605 бактериальных видов может быть использован для лечения любой из предложенных болезней.

WO 02/07741 предлагает использование различных бактерий класса Clostridia для лечения желудочно-кишечных расстройств, но не связывает какие-либо бактерии с какими-либо болезнями или симптомами. WO 2016/086209 предлагает возможное использование большого числа бактерий порядка Clostridiales для уменьшения секреции провоспалительных цитокинов и/или увеличения секреции противовоспалительных цитокинов, но не содержит описания того, каким образом какой-либо из предложенных бактериальных видов может быть использован для лечения какой-либо из предложенных болезней.

Сущность изобретения

Авторы изобретения разработали новые терапии для лечения и предотвращения диареи и/или запора. В частности, авторы изобретения определили, что бактериальные штаммы из рода Blautia могут эффективно уменьшать диарею и/или запор. Как описано в примерах, пероральное введение композиций, содержащих Blautia hydrogenotrophica, может уменьшать диарею и/или запор у пациентов с синдромом раздраженного кишечника (СРК). Таким образом, в первом варианте реализации изобретение предусматривает композицию, содержащую бактериальный штамм рода Blautia, для использования в способе лечения или предотвращения диареи и/или запора.

В предпочтительных вариантах реализации изобретение предусматривает композицию, содержащую бактериальный штамм рода *Blautia*, для использования в способе лечения или предотвращения диареи и/или запора у субъекта с диагнозом болезни Крона, неспецифического язвенного колита или, более предпочтительно, СРК. В некоторых вариантах реализации субъект с диагнозом СРК имеет СРК с проявлениями как диареи, так и запора. В некоторых вариантах реализации субъект с диагнозом СРК имеет СРК с диареей, но без запора или с лишь незначительным запором. В некоторых вариантах реализации субъект с диагнозом СРК имеет СРК с запором, но без диареи или с лишь незначительной диареей.

В предпочтительных вариантах реализации изобретения бактериальный штамм в композиции принадлежит к *Blautia hydrogenotrophica*. Также могут быть использованы близкородственные штаммы, такие как бактериальные штаммы, имеющие последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную последовательности 16s рРНК бактериального штамма *Blautia hydrogenotrophica*. Предпочтительно, бактериальный штамм имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 5. Наиболее предпочтительно, бактериальный штамм в композиции представляет собой штамм *Blautia hydrogenotrophica*, депонированный с номером доступа DSM 10507/14294.

В дополнительных вариантах реализации изобретения бактериальный штамм в композиции принадлежит к *Blautia stercoris*. Также могут быть использованы близкородственные штаммы, такие как бактериальные штаммы, имеющие последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную последовательности 16s рРНК бактериального штамма *Blautia stercoris*. Предпочтительно, бактериальный штамм имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 1 или 3. Предпочтительно, идентичность последовательности определяется по отношению к SEQ ID NO: 3. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, представленную SEQ ID NO: 3.

В дополнительных вариантах реализации изобретения бактериальный штамм в композиции принадлежит к *Blautia wexlerae*. Также могут быть использованы близкородственные штаммы, такие как бактериальные штаммы, имеющие последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную последовательности 16s рРНК бактериального штамма *Blautia wexlerae*. Предпочтительно, бактериальный штамм имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 2 или 4. Предпочтительно, идентичность последовательности определяется по отношению к SEQ ID NO: 4. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, представленную SEQ ID NO: 4.

В определенных вариантах реализации композиция по изобретению предназначена для перорального введения. Пероральное введение штаммов по изобретению может быть эффективным при лечении диареи и/или запора. Также пероральное введение является удобным для пациентов и практикующих врачей и позволяет обеспечить доставку в и/или частичную или полную колонизацию кишечника.

В определенных вариантах реализации композиция по изобретению содержит один или несколько фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей.

В определенных вариантах реализации композиция по изобретению содержит бактериальный штамм, подвергнутый лиофилизации. Лيوфилизация представляет собой эффективную и удобную методику приготовления стабильных композиций, позволяющих обеспечить доставку бактерий, и продемонстрировала возможность получения эффективных композиций в примерах.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает пищевой продукт, содержащий композицию, описанную выше.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает композицию вакцины, содержащей композицию, описанную выше.

Дополнительно изобретение предусматривает способ лечения или предотвращения диареи и/или запора, включающий введение композиции, содержащей бактериальный штамм рода *Blautia*.

В предпочтительных вариантах реализации изобретение предусматривает композицию, содержащую бактериальный штамм рода *Blautia*, для использования в способе лечения или предотвращения болезни, ассоциированной с инфекцией *Enterobacteriaceae*, такой как инфекция *E. coli*. В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении диареи, гастроэнтерита, инфекции мочевыводящих путей или менингита новорожденных.

В дополнительных предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования с целью снижения уровня *Enterobacteriaceae* в желудочно-кишечном тракте, предпочтительно уровня *E. coli*, при лечении или предотвращении СРК, болезни Крона, неспецифического язвенного колита, функциональной диспепсии, диареи, гастроэнтерита, инфекции мочевыводящих путей или менингита новорожденных.

В особенно предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в способе лечения или предотвращения диареи, ассоциированной с инфекцией *Enterobacteriaceae*, такой как инфекция *E. coli*, или предназначены для использования с целью снижения

уровня Enterobacteriaceae в желудочно-кишечном тракте, предпочтительно уровня *E. coli*, при лечении или предотвращении диареи.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1: изменения симптомов пациента на протяжении периода дозирования (дни 1-16) фазы I клинических испытаний.

Фиг. 2: изменения симптомов пациента на протяжении периода вымывания фазы I клинических испытаний.

Фиг. 3: результаты определения $C_{\max}$ методом дыхательного водородного теста в день 1, день 2, день 15 и день 16 для пациентов с СРК, получавших Blautix (фиг. 3a), и пациентов с СРК, получавших плацебо (фиг. 3b). Фиг. 3c представляет собой график, сравнивающий процент получавших Blautix пациентов со снижением водорода между средним для дней 15 и 16 и средним для дней 1 и 2, с процентом получавших плацебо пациентов со снижением водорода между этими моментами времени.

Фиг. 4a: парные данные нескорректированных и скорректированных дыхательных водородных тестов в день 1 и день 15 для пациентов с СРК, получавших Blautix; фиг. 4b: график, сравнивающий средние нескорректированные результаты дыхательного водородного теста в день 1 и день 15 для группы лечения с использованием Blautix; фиг. 4c: график, сравнивающий средние скорректированные результаты дыхательного водородного теста в день 1 и день 15 для группы лечения с использованием Blautix.

Фиг. 5a: парные данные нескорректированных и скорректированных дыхательных водородных тестов в день 1 и день 15 для пациентов с СРК, получавших плацебо; фиг. 5b: график, сравнивающий средние нескорректированные результаты дыхательного водородного теста в день 1 и день 15 для группы плацебо; фиг. 5c: график, сравнивающий средние скорректированные результаты дыхательного водородного теста в день 1 и день 15 для группы плацебо.

Фиг. 6: графики, сравнивающие средние результаты дыхательного водородного теста в день 1 и день 15 для группы лечения с использованием Blautix (Verum (препарат с действующими веществами)) и группы плацебо (фиг. 6a: нескорректированный уровень водорода; фиг. 6b: скорректированный уровень водорода).

Раскрытие изобретения

Бактериальные штаммы

Композиции по изобретению содержат бактериальный штамм рода *Blautia*. Примеры демонстрируют, что бактерии этого рода являются пригодными для лечения или предотвращения диареи и/или запора. Предпочтительные бактериальные штаммы принадлежат к видам *Blautia hydrogenotrophica*, *Blautia stercoris* и *Blautia wexlerae*. Другими предпочтительными бактериальными штаммами для использования по изобретению являются *Blautia producta*, *Blautia coccoides* и *Blautia hansenii*.

Примеры штаммов *Blautia* для использования по изобретению включают *Blautia hydrogenotrophica*, *B. stercoris*, *B. faecis*, *B. coccoides*, *B. glucerasea*, *B. hansenii*, *B. luti*, *B. producta*, *B. schinkii* и *B. wexlerae*. Виды *Blautia* представляют собой грампозитивные неподвижные бактерии, которые могут быть коккоподобными или овальными, и все являются облигатными анаэробами, продуцирующими уксусную кислоту в качестве основного конечного продукта ферментации глюкозы [17]. *Blautia* могут быть выделены из кишечника человека, хотя *B. producta* был выделен из септического образца.

Blautia hydrogenotrophica (прежнее название *Ruminococcus hydrogenotrophicus*) был выделен из кишечников млекопитающих, является строго анаэробным, и метаболизирует H_2/CO_2 до ацетата, что может быть важно для питания и здоровья человека. Типовым штаммом *Blautia hydrogenotrophica* является S5a33=DSM 10507=JCM 14656. Генная последовательность 16S рНК штамма *Blautia hydrogenotrophica* S5a36 имеет номер доступа GenBank X95624.1 (приведена в данном документе как SEQ ID NO: 5). Этот типичный штамм *Blautia hydrogenotrophica* описан в [17] и [18]. Штамм S5a33 и штамм S5a36 соответствуют двум субклонам штамма, выделенного из образца фекалий здорового субъекта. Они демонстрируют одинаковую морфологию, физиологию и метаболизм, и имеют идентичные последовательности 16S рНК. Таким образом, в некоторых вариантах реализации *Blautia hydrogenotrophica* для использования по изобретению имеет последовательность 16S рНК в соответствии с SEQ ID NO: 5.

Бактерия *Blautia hydrogenotrophica*, депонированная с номером доступа DSM 10507, а также с номером доступа DSM 14294, была протестирована в примерах и также называется в данном документе штаммом ВН. Штамм ВН был депонирован в Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig, Germany) 26 января 1996 г. как "*Ruminococcus hydrogenotrophicus*" с номером доступа DSMZ 10507, а также с номером доступа DSMZ 14294 как "S5a33" 14 мая 2001 г. Депозитарием была INRA Laboratoire de Microbiologie CR de Clermont-Ferrand/Theix 63122 Saint Genes Champanelle, France. Права владения на депонированные материалы перешли к 4D Pharma Plc путем переуступки.

Генная последовательность 16S рНК штамма GAM6-1^T *Blautia stercoris* имеет номер доступа GenBank HM62 6177 (раскрыта в данном документе как SEQ ID NO: 1). Типичный пример штамма *Blautia stercoris* описан в [19]. Типовым штаммом *Blautia wexlerae* является WAL 14507=ATCC BAA-1564=DSM 19850 [17]. Генная последовательность 16S рНК штамма WAL 14507 T *Blautia wexlerae* имеет номер доступа GenBank EF036467 (раскрыта в данном документе как SEQ ID NO: 2). Этот типичный штамм

Blautia wexlerae описан в [17].

Предпочтительным штаммом *Blautia stercoris* является штамм, депонированный с номером доступа NCIMB 42381, который также называется в данном документе штаммом 830. Последовательность 16s рРНК штамма 830 представлена как SEQ ID NO: 3. Штамм 830 был депонирован в международном депозитории NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) фирмой GT Biologics Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) 12 марта 2015 г. как "*Blautia stercoris* 830", и ему был присвоен номер доступа NCIMB 42381. GT Biologics Ltd. впоследствии изменила название на 4D Pharma Research Limited.

Предпочтительным штаммом *Blautia wexlerae* является штамм, депонированный с номером доступа NCIMB 42486, который также называется в данном документе штаммом MRX008. Последовательность 16s рРНК штамма MRX008 представлена как SEQ ID NO: 4. Штамм MRX008 был депонирован в международном депозитории NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scotland) фирмой 4D Pharma Research Ltd. (Life Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scotland) 16 ноября 2015 г. как "*Blaqutia/Ruminococcus* MRx0008", и ему был присвоен номер доступа NCIMB 42486.

Ожидается, что бактериальные штаммы, близкородственные со штаммом, протестированным в примерах, также будут эффективными для лечения или предотвращения диареи и/или запора. В определенных вариантах реализации бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную последовательности 16s рРНК бактериального штамма *Blautia hydrogenotrophica*. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 5.

В определенных вариантах реализации бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную последовательности 16s рРНК бактериального штамма *Blautia stercoris*. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 3. Предпочтительно, идентичность последовательности определяется по отношению к SEQ ID NO: 3. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, представленную SEQ ID NO: 3. В определенных вариантах реализации бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную последовательности 16s рРНК бактериального штамма *Blautia wexlerae*. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 2 или SEQ ID NO: 4. Предпочтительно, идентичность последовательности определяется по отношению к SEQ ID NO: 4. Предпочтительно, бактериальный штамм для использования по изобретению имеет последовательность 16s рРНК, представленную SEQ ID NO: 4.

Бактериальные штаммы, являющиеся биотипами бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, или биотипами бактерий, депонированных с номерами доступа NCIMB 42381 и NCIMB 42486, как ожидается, также будут эффективными для лечения или предотвращения диареи и/или запора. Биотип представляет собой близкородственный штамм, имеющий такие же или очень схожие физиологические и биохимические характеристики.

Штаммы, представляющие собой биотипы бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486, и являющиеся пригодными для использования по изобретению, могут быть идентифицированы путем секвенирования других нуклеотидных последовательностей бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486. Например, может быть секвенирован по существу полный геном, и штамм биотипа для использования по изобретению может иметь по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичности последовательностей в по меньшей мере 80% его полного генома (например, в по меньшей мере 85%, 90%, 95% или 99% или в его полном геноме). Например, в некоторых вариантах реализации штамм биотипа имеет по меньшей мере 98% идентичности последовательностей в по меньшей мере 98% его генома или по меньшей мере 99% идентичности последовательностей в 99% его генома. Другие пригодные последовательности для использования при идентификации штаммов биотипа могут включать *hsp60* или повторные последовательности, такие как BOX, ERIC, (GTG)₅ или REP или [20]. Штаммы биотипа могут иметь последовательности с по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичности последовательностей с соответствующей последовательностью бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486. В некоторых вариантах реализации штамм биотипа имеет последовательность с по меньшей мере 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичности последовательностей с соответствующей последовательностью штамма *Blautia hydrogenotrophica*, депонированного как DSM 10507/14294, и содержит последовательность 16s рРНК, которая по меньшей мере на 99% идентична (например, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 99,9% идентична) SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах реализации штамм биотипа имеет последовательность с по меньшей мере 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичности последовательностей с соответствующей последо-

вательностью штамма *Blautia hydrogenotrophica*, депонированной как DSM 10507/14294, и имеет последовательность 16s рРНК в соответствии с SEQ ID NO: 5.

Альтернативно, штаммы, представляющие собой биотипы бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486 и являющиеся пригодными для использования по изобретению, могут быть идентифицированы путем использования депозита с номером доступа DSM 10507/14294, депозита с номером доступа NCIMB 42381 или депозита с номером доступа NCIMB 42486 и проведения анализа рестрикционных фрагментов и/или анализа ПЦР, например, методом флуоресцентного анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (FAFLP) и фингерпринтинга с использованием ПЦР амплификации повторяющихся последовательностей межгенных палиндромов (repetitive DNA element (rep)-PCR fingerprinting), или белкового профилирования, или частичного секвенирования рДНК 16S или 23s. В предпочтительных вариантах реализации такие методики могут быть использованы для идентификации других штаммов *Blautia hydrogenotrophica*, *Blautia stercoris* или *Blautia wexlerae*.

В определенных вариантах реализации штаммы, представляющие собой биотипы бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486, и пригодные для использования по изобретению, являются штаммами, обеспечивающими такие же характеристики (pattern), как и бактерия, депонированная с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486, при проведении анализа методом рестрикционного анализа амплифицированных рибосомальных ДНК (ARDRA), например, с использованием рестрикционного фермента *Sau3AI* (примеры методов и руководство приведены, например, в [21]). Альтернативно, штаммы биотипа идентифицируются как штаммы, имеющие такой же характер ферментации углеводов, как и бактерия, депонированная с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486.

Другие штаммы *Blautia*, пригодные для использования в композициях и способах по изобретению, такие как биотипы бактерии, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486, могут быть идентифицированы с использованием любого пригодного способа или стратегии, включая анализы, описанные в примерах. Например, штаммы для использования по изобретению могут быть идентифицированы путем культивации бактерий и введения крысам для проведения тестирования методом анализа растяжения (distension assay). В частности, бактериальные штаммы, имеющие характеристики роста, тип метаболизма и/или поверхностные антигены, схожие с бактерией, депонированной с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486, могут быть пригодными для использования по изобретению. Полезный штамм будет иметь сопоставимую модулирующую активность микробиоты со штаммом DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486. В частности, штамм биотипа будет оказывать воздействие на диарею и/или запор, сопоставимое с продемонстрированными в примерах эффектами, которые могут быть идентифицированы с использованием протоколов культивации и введения, описанных в примерах.

Особенно предпочтительным штаммом по изобретению является штамм *Blautia hydrogenotrophica*, депонированный с номером доступа DSM 10507/14294. Он является типичным штаммом ВН, который был использован для тестирования в примерах и продемонстрировал эффективность при лечении болезни. Таким образом, изобретение предусматривает клетку, такую как выделенная клетка, штамма *Blautia hydrogenotrophica*, депонированного с номером доступа DSM 10507/14294, или ее производную, для использования в терапии, в частности, при болезнях, описанных в данном документе.

Производными штамма, депонированного с номером доступа DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486, могут быть дочерний штамм (потомство) или штамм, выращенный (субклонированный) из исходного. Производный штамм по изобретению может быть модифицирован, например, на генетическом уровне, без потери биологической активности. В частности, производный штамм по изобретению является терапевтически активным. Производный штамм будет иметь модулирующую активность микробиоты, сравнимую с исходным штаммом DSM 10507/14294, NCIMB 42381 или NCIMB 42486. В частности, производный штамм будет оказывать на диарею и/или запор воздействие, сопоставимое с продемонстрированными в примерах эффектами, которые могут быть идентифицированы с использованием протоколов культивации и введения, описанных в примерах. Производное DSM 10507/14294 будет обычно биотипом штамма DSM 10507/14294. Производное NCIMB 42381 будет обычно биотипом штамма NCIMB 42381. Производное NCIMB 42486 будет обычно биотипом штамма NCIMB 42486.

Ссылки на клетки штамма *Blautia hydrogenotrophica*, депонированного с номером доступа DSM 10507/14294, охватывают любые клетки, имеющие такие же характеристики безопасности и терапевтической эффективности, как и штаммы, депонированные с номером доступа DSM 10507/14294, и такие клетки входят в объем изобретения. Ссылки на клетки штамма *Blautia stercoris*, депонированного с номером доступа NCIMB 42381, охватывают любые клетки, имеющие такие же характеристики безопасности и терапевтической эффективности, как и штаммы, депонированные с номером доступа NCIMB 42381, и такие клетки входят в объем изобретения. Ссылки на клетки штамма *Blautia wexlerae*, депонированного с номером доступа NCIMB 42486, охватывают любые клетки, имеющие такие же характеристики безопасности и терапевтической эффективности, как и штаммы, депонированные с номером доступа NCIMB 42486, и такие клетки входят в объем изобретения.

В предпочтительных вариантах реализации бактериальные штаммы в композициях по изобретению являются жизнеспособными и способны частично или полностью колонизировать кишечник.

Терапевтическое применение

В предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении диареи и/или запора. В некоторых вариантах реализации композиция предназначена для использования при лечении пациента, имеющего как диарею, так и запор. В некоторых вариантах реализации композиция предназначена для использования при лечении пациента, имеющего диарею без запора. В некоторых вариантах реализации композиция предназначена для использования при лечении пациента, имеющего запор без диареи. Хотя у пациентов часто наблюдается диарея или запор, у одного и того же пациента могут наблюдаться оба состояния в разное время. У пациентов с СРК и/или воспалительными заболеваниями кишечника часто наблюдаются диарея и/или запор. Соответственно, изобретение предусматривает композицию по изобретению для использования при лечении пациента с диагнозом или подозрением на наличие СРК или воспалительной болезни кишечника. Например, пациенты с СРК могут испытывать чередующиеся циклы диареи и запора или пациент с СРК может быть охарактеризован как пациент с СРК с диареей или пациент с СРК с запором. В некоторых вариантах реализации композиция по изобретению может быть использована для лечения пациента с СРК, пациента, имеющего СРК с диареей, или пациента, имеющего СРК с запором. Например, в некоторых вариантах реализации субъект с диагнозом СРК имеет СРК с проявлениями как диареи, так и запора. В некоторых вариантах реализации субъект с диагнозом СРК имеет СРК с диареей, но без запора или с лишь незначительным запором. В некоторых вариантах реализации субъект с диагнозом СРК имеет СРК с запором, но без диареи или с лишь незначительной диареей. В некоторых вариантах реализации воспалительная болезнь относится к тонкой кишке, ободочной кишке или прямой кишке. Диарея является симптомом болезни Крона и неспецифического язвенного колита. Соответственно, композиция по изобретению может быть использована для лечения пациента с болезнью Крона или неспецифическим язвенным колитом.

Как продемонстрировано в примерах, бактериальные композиции по изобретению могут эффективно уменьшать диарею и/или запор.

В предпочтительных вариантах реализации, композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении диареи и/или запора, ассоциированных с болезнью Крона, неспецифическим язвенным колитом или, более предпочтительно, СРК. В предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении диареи и/или запора у субъекта с диагнозом болезни Крона, неспецифического язвенного колита или, более предпочтительно, СРК. В предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении диареи и/или запора при лечении болезни Крона, неспецифического язвенного колита или, более предпочтительно, СРК. В некоторых вариантах реализации у пациента наблюдается боль в животе и/или метеоризм (bloating) в дополнение к диарее и/или запору. В таких вариантах реализации пациент может иметь любую комбинацию двух, трех или всех четырех этих состояний. Например, пациент может иметь диарею, запор, боль в животе и метеоризм; диарею, запор и боль в животе; диарею, запор и метеоризм; диарею, боль в животе и метеоризм без запора; запор, боль в животе и/или метеоризм без диареи.

В определенных вариантах реализации композиция может иметь форму бактериальной культуры. В некоторых вариантах реализации композиция может предпочтительно быть лиофилизатом.

В некоторых вариантах реализации композиция по изобретению предназначена для использования в лечении диареи и/или запора у субъекта, имеющего повышенный уровень водорода в своем дыхании по сравнению со здоровым субъектом. В некоторых вариантах реализации композиция по изобретению предназначена для использования в снижении уровня водорода в дыхании субъекта, имеющего диарею и/или запор. Субъект предпочтительно представляет собой субъекта с диагнозом СРК и/или воспалительной болезни кишечника. В некоторых вариантах реализации, воспалительная болезнь относится к тонкой кишке, ободочной кишке или прямой кишке. В некоторых вариантах реализации субъекту была диагностирована болезнь Крона, неспецифический язвенный колит или, более предпочтительно СРК, например один из типов СРК, описанных в данном документе. Не будучи связанным с теорией, предполагается, что повышенный уровень водорода возникает вследствие механизмов, лежащих в основе воспаления в кишечнике. Примеры показывают, что лечение композицией по изобретению снижает уровень водорода, детектируемый в дыхательных водородных тестах. Соответственно, уровни водорода предпочтительно оценивают с использованием дыхательного водородного теста. Дыхательный водородный тест хорошо известен специалистам и, таким образом, квалифицированный специалист будет знать, как проводить такой тест. В некоторых вариантах реализации пациенту вводят лактулозу в качестве субстрата для проведения теста.

Дыхательный водородный тест также является полезным инструментом для контроля эффективности или вероятной эффективности лечения или профилактики с использованием композиции по изобретению. Например, снижение уровня водорода, детектируемого в дыхании субъекта после лечения или профилактики с использованием композиции по изобретению, может указывать на то, что лечение оказывает терапевтический или профилактический эффект. Соответственно, в некоторых вариантах реали-

зации способы и применение изобретения дополнительно включают контроль уровня водорода в дыхании субъекта в ходе и/или после лечения или профилактики с использованием композиции по изобретению и, тем самым, оценку эффективности или вероятной эффективности лечения или профилактики. Например, уровни водорода могут контролироваться в один или несколько (например, 1, 2, 3, 4 или более 4) моментов времени, например включая моменты времени до начала лечения, в начале лечения, в ходе лечения, в конце лечения и/или после лечения, по желанию. В некоторых вариантах реализации, уровень водорода в дыхании субъекта в конце и/или после периода дозирования (во время которого субъекту вводят композицию) сравнивают с уровнем в начале и/или до периода дозирования, и снижение уровня указывает на эффективность или вероятную эффективность лечения или профилактики. Например, в вариантах реализации, в которых период дозирования составляет 16 дней, может быть желательным проводить измерения в день 1 и день 16, или например, в день 1, день 2, день 15 и день 16. В некоторых вариантах реализации проводят множество измерений и определяют среднее для таких результатов измерений (например, среднее для дня 1 и дня 2 и среднее для дня 15 и дня 16). В некоторых вариантах реализации снижение уровня водорода Stax на по меньшей мере 40 ppm (млн^{-1}) указывает, что лечение или профилактика являются эффективными или вероятно эффективными. В некоторых вариантах реализации уровень водорода в дыхании субъекта измеряют только один раз, например в конце или после лечения, и значение уровня, равное или близкое к предварительно заданному уровню, указывает на то, что лечение или профилактика вероятно были эффективными. Дыхательный водородный тест является стандартным анализом и, таким образом, предварительно заданные уровни известны специалистам.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования с целью предотвращения диареи и/или запора у субъекта, получающего, или получившего, или собирающегося получить (например, позже в тот же день, на следующий день или на протяжении 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 14 или 21 дня) лечение антибиотиками, или страдающего от или переболевшего бактериальным гастроэнтеритом. Лечение антибиотиками и бактериальный гастроэнтерит ассоциированы с изменениями микробиоты кишечника, которые могут предшествовать диарее и/или запору и которые можно предотвратить композициями по изобретению. Композиции по изобретению могут быть введены одновременно с, отдельно от или последовательно с лечением антибиотиками. Например, композиции по изобретению могут быть введены одновременно с лечением антибиотиками.

В предпочтительных вариантах реализации лечение композициями по изобретению приводит к уменьшению диареи и/или запора.

Лечение или предотвращение диареи и/или запора могут относиться, например, к уменьшению тяжести симптомов или снижению частоты обострений или уменьшению набора факторов (triggers), являющихся проблемными для пациента.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования при лечении или предотвращении болезни, ассоциированной с инфекцией *Enterobacteriaceae*, такой как инфекция *E. coli*. В определенных вариантах реализации, композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении диареи, гастроэнтерита, инфекции мочевыводящих путей или менингита новорожденных. В таких вариантах реализации *Enterobacteriaceae* может быть патогенным штаммом.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении болезни, ассоциированной с повышенными уровнями *Enterobacteriaceae*, таких как *E. coli*. В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении диареи, гастроэнтерита, инфекции мочевыводящих путей или менингита новорожденных. В таких вариантах реализации *Enterobacteriaceae* может быть комменсальным или непатогенным штаммом.

В предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования с целью снижения уровня *Enterobacteriaceae* в желудочно-кишечном тракте, предпочтительно, уровня *E. coli*, при лечении или предотвращении болезни, ассоциированной с повышенными уровнями *Enterobacteriaceae*, такой как СРК, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, функциональная диспепсия, диарея, гастроэнтерит, инфекция мочевыводящих путей или менингит новорожденных. Известно, что *Enterobacteriaceae*, и в частности *E. coli*, являются потенциальными инициаторами или, как известно, приводят к обострению болезни Крона и неспецифического язвенного колита [22-24], поэтому эффект, продемонстрированный в примерах для композиций по изобретению, может быть благоприятным для лечения этих состояний.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для использования в лечении или предотвращении СРК, болезни Крона, неспецифического язвенного колита, функциональной диспепсии, диареи, гастроэнтерита, инфекции мочевыводящих путей или менингита новорожденных путем снижения уровня *Enterobacteriaceae* в желудочно-кишечном тракте.

Способы введения

Предпочтительно, композиции по изобретению предназначены для введения в желудочно-кишечный тракт с целью обеспечения доставки и/или частичной или полной колонизации кишечника бактериальным штаммом по изобретению. Обычно, композиции по изобретению вводят перорально, но

они могут быть введены ректально, интраназально или буккальным или сублингвальным путями.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению могут быть введены в виде губки (foam), спрея или геля.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению могут быть введены в виде суппозитория, такого как ректальный суппозиторий, например в виде композиции с какао-маслом, синтетическим твердым жиром (например, суппоцир (suppocire), витепсол (witepsol)), глицерожелатином, полиэтиленгликолем или глицериновым мылом (soap glycerin).

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению вводят в желудочно-кишечный тракт через трубку, такую как назогастральный зонд, орогастральный зонд, желудочный зонд, еюностомический зонд (J tube), чрескожная эндоскопическая гастростомия (ЧЭГ), или отверстие, такое как отверстие в стенке грудной клетки, обеспечивающее доступ к желудку, тощей кишке, и другие пригодные отверстия доступа.

Композиции по изобретению могут быть введены однократно или они могут вводиться последовательно по схеме лечения. В определенных вариантах реализации композиции по изобретению предназначены для ежедневного введения. Примеры демонстрируют, что введение обеспечивает успешную колонизацию и клиническую пользу при лечении диареи и/или запора.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению вводят регулярно, например ежедневно, через день или еженедельно, на протяжении длительного периода времени, такого как на протяжении по меньшей мере одной недели, двух недель, одного месяца, двух месяцев, шести месяцев или одного года. Примеры демонстрируют, что введение ВН может не приводить к постоянной колонизации кишечника, поэтому регулярное введение на протяжении длительных периодов времени может обеспечивать большую терапевтическую пользу.

В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению вводят на протяжении 7 дней, 14 дней, 16 дней, 21 дня или 28 дней или не более чем 7 дней, 14 дней, 16 дней, 21 дня или 28 дней. Например, в некоторых вариантах реализации композиции по изобретению вводят в течение 16 дней.

В определенных вариантах реализации изобретения лечение в соответствии с изобретением сопровождается оценкой микробиоты кишечника пациента. Лечение может быть повторено, если доставка и/или частичная или полная колонизация штаммом по изобретению не достигнута и, таким образом, эффект не наблюдается, или лечение может быть прекращено, если доставка и/или частичная или полная колонизация будут успешными и эффект наблюдается.

В определенных вариантах реализации композиция по изобретению может быть введена беременному животному, например млекопитающему, такому как человек, с целью предотвращения развития диареи и/или запора у ребенка *in utero* и/или после его рождения.

Композиции по изобретению могут быть введены пациенту с установленным диагнозом диареи и/или запора, или болезни или состояния, ассоциированных с диареей и/или запором, или идентифицированному как имеющему риск диареи и/или запора. Композиции могут также быть введены в качестве профилактической меры для предотвращения развития диареи и/или запора у здорового пациента.

Композиции по изобретению могут быть введены пациенту, который был идентифицирован как имеющий аномальную микробиоту кишечника. Например, пациент может иметь пониженную колонизацию *Blautia*, и в частности *Blautia hydrogenotrophica*, *Blautia stercoris* или *Blautia wexlerae*, или ее отсутствие.

Композиции по изобретению могут быть введены в виде пищевого продукта, такого как питательная добавка.

В общем, композиции по изобретению предназначены для лечения людей, хотя они могут быть использованы для лечения животных, включая моногастрических млекопитающих, таких как домашняя птица, свиньи, кошки, собаки, лошади или кролики. Композиции по изобретению могут быть пригодными для улучшения роста и продуктивности (performance) животных. При введении животным может быть использовано введение через желудочный зонд.

В некоторых вариантах реализации субъект, которому должна быть введена композиция, представляет собой взрослого человека. В некоторых вариантах реализации субъект, которому должна быть введена композиция, представляет собой младенца человека.

Композиции

В общем, композиция по изобретению содержит бактерии. В предпочтительных вариантах реализации изобретения композиция приготовлена в лиофилизированной форме. Например, композиция по изобретению может содержать гранулы или желатиновые капсулы, например твердые желатиновые капсулы, содержащие бактериальный штамм по изобретению.

Предпочтительно, композиция по изобретению содержит лиофилизированные бактерии. Лيوфилизация бактерий является хорошо отработанной процедурой и соответствующие рекомендации приведены, например, в работах [25-27]. Композиции лиофилизатов могут быть особенно эффективными. В предпочтительных вариантах реализации композиции по изобретению содержат лиофилизированные бактерии и предназначены для лечения диареи и/или запора, ассоциированных с СРК.

Альтернативно, композиция по изобретению может содержать живую активную бактериальную культуру. Примеры демонстрируют, что культуры бактерий по изобретению являются терапевтически эффективными.

В некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению не был инактивирован, например не был инактивирован нагреванием. В некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению не был убит, например не был убит нагреванием. В некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению не был ослаблен, например не был ослаблен нагреванием. Например, в некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению не был убит, инактивирован и/или ослаблен. Например, в некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению является живым. Например, в некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению является жизнеспособным. Например, в некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению способен частично или полностью колонизировать кишечник. Например, в некоторых вариантах реализации бактериальный штамм в композиции по изобретению является жизнеспособным и способен частично или полностью колонизировать кишечник.

В некоторых вариантах реализации композиция содержит смесь живых бактериальных штаммов и убитых бактериальных штаммов.

В предпочтительных вариантах реализации композиция по изобретению инкапсулирована для обеспечения возможности доставки бактериального штамма в кишечник. Инкапсулирование защищает композицию от деградации до доставки в целевую область путем, например, разрыва в результате химического или физического воздействия, такого как давление, ферментативная активность или физическое разрушение, которое может инициироваться изменением pH. Может быть использован любой пригодный способ инкапсулирования. Типичные примеры методик инкапсулирования включают захват в пористой матрице, присоединение или адсорбцию на поверхностях твердого носителя, самоагрегацию путем флокуляции или с помощью сшивающих агентов и механическое удерживание за микропористой мембраной или в микрокапсуле. Рекомендации по инкапсулированию, которые могут быть полезными для приготовления композиций по изобретению, приведены, например, в источниках [28-29].

Композиция может быть введена перорально и может иметь форму таблетки, капсулы или порошка. Инкапсулированные продукты являются предпочтительными, потому что *Blautia* представляют собой анаэробы. Другие ингредиенты (такие как, например, витамин C), могут быть включены в качестве поглотителей кислорода и пребиотических субстратов для улучшения доставки и/или частичной или полной колонизации и выживания *in vivo*. Альтернативно, пробиотическая композиция по изобретению может быть введена перорально в виде пищевого или питательного продукта, такого как ферментированный молочный продукт на основе молока или сыворотки, или в виде фармацевтического продукта.

Композиция может быть составлена как пробиотик.

Композиция по изобретению включает терапевтически эффективное количество бактериального штамма по изобретению. Терапевтически эффективное количество бактериального штамма является достаточным для положительного воздействия на пациента. Терапевтически эффективное количество бактериального штамма может быть достаточным для обеспечения доставки и/или частичной или полной колонизации кишечника пациента.

Пригодная ежедневная доза бактерий, например, для взрослого человека может составлять от примерно 1×10^3 до примерно 1×10^{11} колониеобразующих единиц (КОЕ); например от примерно 1×10^7 до примерно 1×10^{10} КОЕ; в другом примере от примерно 1×10^6 до примерно 1×10^{10} КОЕ; в другом примере от примерно 1×10^7 до примерно 1×10^{11} КОЕ; в другом примере от примерно 1×10^8 до примерно 1×10^{10} КОЕ; в другом примере от примерно 1×10^8 до примерно 1×10^{11} КОЕ.

В определенных вариантах реализации доза бактерий составляет по меньшей мере 10^9 клеток в день, например по меньшей мере 10^{10} , по меньшей мере 10^{11} , или по меньшей мере 10^{12} клеток в день.

В определенных вариантах реализации композиция содержит бактериальный штамм в количестве от примерно 1×10^6 до примерно 1×10^{11} КОЕ/г, по отношению к весу композиции; например от примерно 1×10^8 до примерно 1×10^{10} КОЕ/г. Доза может составлять, например, 1 г, 3 г, 5 г и 10 г.

Типично, пробиотик, такой как композиция по изобретению, необязательно объединяют с по меньшей мере одним пригодным соединением-пребиотиком. Соединение-пребиотик обычно представляет собой неперевариваемый углевод, такой как олиго- или полисахарид, или сахароспирт, который не разлагается или не всасывается в верхнем отделе пищеварительного тракта. Известные пребиотики включают коммерческие продукты, такие как инулин и трансгалактоолигосахариды.

В определенных вариантах реализации пробиотическая композиция по данному изобретению включает соединение-пребиотик в количестве от примерно 1 до примерно 30 мас.% по отношению к общему весу композиции (например, от 5 до 20 мас.%). Углеводы могут быть выбраны из группы, состоящей из: фруктоолигосахаридов (или FOS), короткоцепочечных фруктоолигосахаридов, инулина, изомальтоолигосахаридов, пектинов, ксилоолигосахаридов (или XOS), хитозанолигосахаридов (или COS), бета-глюканов, модифицированных аравийской камедью (arable gum) и резистентных крахмалов, поли-

декстрозы, D-тагатозы, акациевых волокон (*acacia fibers*), волокон рожкового дерева (*carob*), овса и цитрусовых. В одном аспекте пребиотики представляют собой короткоцепочечные флуктоолигосахариды (для простоты обозначаются ниже кц-FOS (FOSs-с.с.)); указанные кц-FOS являются неперевариваемыми углеводами, обычно получаемыми путем конверсии свекловичного сахара и содержащими молекулу сахарозы, с которой связаны три молекулы глюкозы.

Композиции по изобретению могут содержать фармацевтически приемлемые эксципиенты или носители. Примеры таких пригодных эксципиентов приведены в источнике [30]. Приемлемые для терапевтического применения носители или разбавители хорошо известны в фармацевтике и описаны, например, в источнике [31]. Примеры пригодных носителей включают лактозу, крахмал, глюкозу, метилцеллюлозу, стеарат магния, маннит, сорбит и т.п. Примеры пригодных разбавителей включают этанол, глицерин и воду. Выбор фармацевтического носителя, эксципиента или разбавителя может проводиться с учетом предполагаемого пути введения и стандартной фармацевтической практики. Фармацевтические композиции могут содержать в качестве или в дополнение к носителю, эксципиенту или разбавителю любое пригодное связующее (связующие), смазывающее вещество (вещества), суспендирующий агент (агенты), покрывное вещество (вещества), солиubilизатор(ы). Примеры пригодных связующих включают крахмал, желатин, природные сахара, такие как глюкоза, безводную лактозу, сыпучую лактозу, бета-лактозу, сахаристые вещества кукурузы, природные и синтетические камеди, такие как гуммиарабик, трагакант или альгинат натрия, карбоксиметилцеллюлозу и полиэтиленгликоль. Примеры пригодных смазывающих веществ включают олеат натрия, стеарат натрия, стеарат магния, бензоат натрия, ацетат натрия, хлорид натрия и т.п. Консерванты, стабилизаторы, красители и даже вкусовые агенты могут быть предусмотрены в фармацевтической композиции. Примеры консервантов включают бензоат натрия, сорбиновую кислоту, цистеин и сложные эфиры п-оксибензойной кислоты, например, в некоторых вариантах реализации консервант выбирают из бензоата натрия, сорбиновой кислоты и сложных эфиров п-оксибензойной кислоты. Также могут быть использованы антиоксиданты и суспендирующие агенты. Дополнительным примером пригодного носителя является сахароза. Дополнительным примером консерванта является цистеин.

Композиции по изобретению могут быть составлены в виде пищевого продукта. Например, пищевой продукт может обеспечивать, в дополнение к терапевтическому эффекту по изобретению, питательную пользу, такую как у питательной добавки. Аналогично, композиция пищевого продукта может быть составлена таким образом, чтобы она усиливала вкус композиции по изобретению или делала композицию более привлекательной для употребления за счет большего сходства с обычным компонентом пищи, чем с фармацевтической композицией. В определенных вариантах реализации композицию по изобретению составляют в виде продукта на основе молока. Термин "продукт на основе молока" означает любой жидкий или полутвердый продукт на основе молока или сыворотки, имеющий различное содержание жиров. Продукт на основе молока может быть, например, коровьим молоком, козьим молоком, овечьим молоком, снятым молоком, цельным молоком, молоком, восстановленным из сухого молока и сыворотки без какой-либо переработки, или переработанным продуктом, таким как йогурт, простокваша, свернувшееся молоко, кислое молоко, кислое цельное молоко, пахта и другие кислые молочные продукты. Другая важная группа включает молочные напитки, такие как напитки из сыворотки, кисломолочные продукты, сгущенное молоко, заменители грудного молока (*infant*) или молоко для детского питания (*baby milks*); молочные напитки со вкусовыми добавками (*flavoured milks*), мороженое; содержащие молоко пищевые продукты, такие как сласти.

В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат один или несколько бактериальных штаммов рода *Blautia* и не содержат бактерий какого-либо другого рода или содержат только минимальное (*de minimis*) или биологически незначимое количество бактерий другого рода.

В определенных вариантах реализации композиции по изобретению содержат один бактериальный штамм или вид и не содержат каких-либо других бактериальных штаммов или видов. Такие композиции могут содержать только минимальное или биологически незначимое количество других бактериальных штаммов или видов. Такие композиции могут быть культурой, по существу не содержащей других видов организмов (*species of organism*). В некоторых вариантах реализации, такие композиции могут быть лиофилизатом, по существу не содержащим других видов организмов.

В определенных вариантах реализации, композиции по изобретению содержат один или несколько бактериальных штаммов рода *Blautia*, например *Blautia hydrogenotrophica*, и не содержат какого-либо другого бактериального рода или содержат только минимальное или биологически незначимое количество бактерий другого рода. В определенных вариантах реализации композиции по изобретению содержат один вид *Blautia*, например *Blautia hydrogenotrophica*, и не содержат каких-либо других бактериальных видов или содержат только минимальное или биологически незначимое количество бактерий другого вида. В определенных вариантах реализации композиции по изобретению содержат один штамм *Blautia*, например *Blautia hydrogenotrophica*, и не содержат каких-либо других бактериальных штаммов или видов или содержат только минимальное или биологически незначимое количество бактерий другого штамма или вида.

В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат более одного бактери-

ального штамма или вида. Например, в некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат более одного штамма из одного и того же вида (например, более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 или 45 штаммов) и, необязательно, не содержат бактерий каких-либо других видов. В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат менее 50 штаммов из одного и того же вида (например, менее 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 или 3 штаммов) и, необязательно, не содержат бактерий каких-либо других видов. В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат 1-40, 1-30, 1-20, 1-19, 1-18, 1-15, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 2-50, 2-40, 2-30, 2-20, 2-15, 2-10, 2-5, 6-30, 6-15, 16-25 или 31-50 штаммов из одного и того же вида и, необязательно, не содержат бактерий каких-либо других видов. В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат более одного вида из одного и того же рода (например, более 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 23, 25, 30, 35 или 40 видов) и, необязательно, не содержат бактерий любого другого рода. В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат менее 50 видов из одного и того же рода (например, менее 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 12, 10, 8, 7, 6, 5, 4 или 3) и, необязательно, не содержат бактерий любого другого рода. В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению содержат 1-50, 1-40, 1-30, 1-20, 1-15, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 2-50, 2-40, 2-30, 2-20, 2-15, 2-10, 2-5, 6-30, 6-15, 16-25 или 31-50 видов из одного и того же рода и, необязательно, не содержат бактерий любого другого рода. Изобретение включает любые комбинации вышеописанных вариантов.

В некоторых вариантах реализации композиция содержит микробный консорциум. Например, в некоторых вариантах реализации композиция содержит бактериальный штамм *Blautia* в составе микробного консорциума. Например, в некоторых вариантах реализации бактериальный штамм *Blautia* присутствует в комбинации с одним или несколькими (например, по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 10, 15 или 20) другими бактериальными штаммами из других родов, с которыми он может существовать симбиотически *in vivo* в кишечнике. Например, в некоторых вариантах реализации композиция содержит бактериальный штамм *Blautia hydrogenotrophica* в комбинации с бактериальным штаммом из другого рода. В некоторых вариантах реализации микробный консорциум содержит два или больше бактериальных штаммов, полученных из образца фекалий одного организма, например человека. В некоторых вариантах реализации микробный консорциум не встречается вместе в природе. Например, в некоторых вариантах реализации микробный консорциум содержит бактериальные штаммы, полученные из образцов фекалий по меньшей мере двух разных организмов. В некоторых вариантах реализации два разных организма принадлежат к одному и тому же виду, например два разных человека. В некоторых вариантах реализации два разных организма представляют собой младенца человека и взрослого человека. В некоторых вариантах реализации два разных организма представляют собой человека и млекопитающее, не являющееся человеком.

В некоторых вариантах реализации композиция по изобретению дополнительно содержит бактериальный штамм, имеющий такие же характеристики безопасности и терапевтической эффективности, как и штамм *Blautia hydrogenotrophica*, депонированный с номером доступа DSM 10507/14294, но не являющийся штаммом *Blautia hydrogenotrophica*, депонированным с номером доступа DSM 10507/14294, или не являющийся *Blautia hydrogenotrophica*, или не относящийся к *Blautia*.

В некоторых вариантах реализации, в которых композиция по изобретению содержит более одного бактериального штамма, вида или рода, индивидуальные бактериальные штаммы, виды или роды могут быть предназначены для раздельного, одновременного или последовательного введения. Например, композиция может содержать все из более чем одного бактериального штамма, вида или рода, или бактериальные штаммы, виды или роды могут храниться раздельно и вводиться раздельно, одновременно или последовательно. В некоторых вариантах реализации более чем один из бактериальных штаммов, видов или родов хранятся раздельно, но смешиваются перед использованием.

В некоторых вариантах реализации бактериальный штамм для использования по изобретению получают из фекалий взрослого человека. В некоторых вариантах реализации, в которых композиция по изобретению содержит более одного бактериального штамма, все бактериальные штаммы получают из фекалий взрослого человека или, в случае присутствия других бактериальных штаммов, они присутствуют только в минимальных количествах. Бактерии могут выращиваться в культуре после получения из фекалий взрослого человека и использоваться в композиции по изобретению.

В некоторых вариантах реализации один или несколько бактериальных штаммов *Blautia* является/являются единственным терапевтически активным агентом (агентами) в композиции по изобретению. В некоторых вариантах реализации бактериальный штамм (штаммы) в композиции является/являются единственным терапевтически активным агентом (агентами) в композиции по изобретению.

Композиции для использования в соответствии с изобретением могут нуждаться в получении разрешения на продажу или не требовать такого разрешения.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, в которой указанный бактериальный штамм является лиофилизированным. В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, в которой указанный бактериальный штамм подвергнут распылительной сушке. В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую компози-

цию, в которой бактериальный штамм лиофилизирован или подвергнут распылительной сушке и в которой он является живым. В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, в которой бактериальный штамм лиофилизирован или подвергнут распылительной сушке и в которой он является жизнеспособным. В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, в которой бактериальный штамм лиофилизирован или подвергнут распылительной сушке и в которой он способен частично или полностью колонизировать кишечник. В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, в которой бактериальный штамм лиофилизирован или подвергнут распылительной сушке и в которой он является жизнеспособным и способен частично или полностью колонизировать кишечник.

В некоторых случаях лиофилизированный или подвергнутый распылительной сушке бактериальный штамм восстанавливают перед введением. В некоторых случаях восстановление осуществляют путем использования разбавителя, описанного в данном документе.

Композиции по изобретению могут содержать фармацевтически приемлемые эксципиенты, разбавители или носители.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую: бактериальный штамм по изобретению; и фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или разбавитель; причем количество бактериального штамма является достаточным для лечения расстройства при введении нуждающемуся в этом субъекту; и расстройство представляет собой диарею и/или запор, такие как диарея и/или запор, ассоциированные с болезнью Крона, неспецифическим язвенным колитом или, более предпочтительно, СРК.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, причем количество бактериального штамма составляет от примерно 1×10^3 до примерно 1×10^{11} колониеобразующих единиц на грамм веса композиции.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, причем композицию вводят в дозе 1 г, 3 г, 5 г или 10 г.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, причем композицию вводят способом, выбранным из группы, состоящей из перорального, ректального, подкожного, назального, буккального и сублингвального.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, содержащую носитель, выбранный из группы, состоящей из лактозы, крахмала, глюкозы, метилцеллюлозы, стеарата магния, маннита и сорбита.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, содержащую разбавитель, выбранный из группы, состоящей из этанола, глицерина и воды.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, содержащую эксципиент, выбранный из группы, состоящей из крахмала, желатина, глюкозы, безводной лактозы, сыпучей лактозы, бета-лактозы, сахаристого вещества кукурузы, гуммиарабика, трагаканта, альгината натрия, карбоксиметилцеллюлозы, полиэтиленгликоля, олеата натрия, стеарата натрия, стеарата магния, бензоата натрия, ацетата натрия и хлорида натрия.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, дополнительно содержащую по меньшей мере что-то одно из консерванта, антиоксиданта и стабилизатора.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, содержащую консервант, выбранный из группы, состоящей из бензоата натрия, сорбиновой кислоты и сложных эфиров п-оксибензойной кислоты.

В определенных вариантах реализации предусматривается фармацевтическая композиция по изобретению, не содержащая каких-либо минеральных веществ или, более конкретно, не содержащая каких-либо металлов с атомным номером более 33, например не содержащая каких-либо минеральных веществ из группы, состоящей из селена, молибдена, вольфрама, соединений селена, соединений молибдена и соединений вольфрама.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, в которой указанный бактериальный штамм является лиофилизированным.

В определенных вариантах реализации изобретение предусматривает вышеуказанную фармацевтическую композицию, причем композиция, при хранении в запечатанном контейнере при температуре примерно 4°C или примерно 25°C и помещении контейнера в атмосферу с 50% относительной влажностью, сохраняет по меньшей мере 80% бактериального штамма, при измерении в колониеобразующих единицах по истечении периода времени, составляющего по меньшей мере примерно: 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев, 1 год, 1,5 года, 2 года, 2,5 года или 3 года.

В некоторых вариантах реализации композиция по изобретению предусматривается в герметически запечатанном контейнере, содержащем композицию, описанную в данном документе. В некоторых вари-

антах реализации герметически запечатанный контейнер представляет собой саше или флакон. В некоторых вариантах реализации композиция по изобретению предусматривается в шприце, содержащем композицию, описанную в данном документе.

Композиция по данному изобретению может в некоторых вариантах реализации предусматриваться в виде фармацевтической композиции. Например, композиция может иметь вид таблетки или капсулы. В некоторых вариантах реализации капсула представляет собой желатиновую капсулу ("gel-cap").

В некоторых вариантах реализации композиции по изобретению вводят перорально. Пероральное введение может включать проглатывание, в результате чего состав поступает в желудочно-кишечный тракт, и/или буккальное, лингвальное или сублингвальное введение, при которых состав поступает в кровоток прямо из рта.

Фармацевтические композиции, пригодные для перорального введения, включают твердые прессованные массы (solid plugs), твердые микродисперсные материалы, полутвердые и жидкие материалы (включая многофазные или дисперсные системы), такие как таблетки; мягкие или твердые капсулы, содержащие материалы, состоящие из множества отдельных частиц, или нанодисперсные материалы, жидкости (например, водные растворы), эмульсии или порошки; сосательные таблетки (включая наполненные жидкостью); жвачки; гели; быстродиспергирующиеся лекарственные формы; пленки; капли (ovules); спреи; и буккальные/мукоадгезивные пластыри.

В некоторых вариантах реализации фармацевтическая композиция представляет собой энтеросолюбильную композицию (enteric formulation), т.е. желудочно-резистентную композицию (например, устойчивую к желудочному pH), пригодную для доставки композиции по изобретению в кишечник путем перорального введения. Энтеросолюбильные композиции могут быть особенно полезны в тех случаях, когда бактерии или другой компонент композиции являются чувствительными к кислоте, например склонны к деградации в условиях желудка.

В некоторых вариантах реализации энтеросолюбильная композиция включает энтеросолюбильное покрытие. В некоторых вариантах реализации композиция представляет собой лекарственную форму с энтеросолюбильным покрытием. Например, композиция может быть таблеткой с энтеросолюбильным покрытием или капсулой с энтеросолюбильным покрытием и т.п. Энтеросолюбильное покрытие может быть обычным энтеросолюбильным покрытием, например обычным покрытием для таблетки, капсулы и т.п., для пероральной доставки. Композиция может включать пленочное покрытие, например тонкопленочный слой энтеросолюбильного полимера, например нерастворимого в кислоте полимера.

В некоторых вариантах реализации энтеросолюбильная композиция является энтеросолюбильной по своей природе, например желудочно-резистентной, без необходимости использования энтеросолюбильного покрытия. Таким образом, в некоторых вариантах реализации композиция представляет собой энтеросолюбильную композицию, не содержащую энтеросолюбильного покрытия. В некоторых вариантах реализации композиция представляет собой капсулу, изготовленную из терможелирующегося (thermogelling) материала. В некоторых вариантах реализации терможелирующийся материал представляет собой целлюлозный материал, такой как метилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза или гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ). В некоторых вариантах реализации капсула включает оболочку, не содержащую какого-либо пленкообразующего полимера. В некоторых вариантах реализации капсула включает оболочку, и оболочка содержит гидроксипропилметилцеллюлозу и не содержит какого-либо пленкообразующего полимера (см., например, [32]). В некоторых вариантах реализации композиция является энтеросолюбильной по своей природе капсулой (например, Vcaps® фирмы Capsugel).

В некоторых вариантах реализации композиция представляет собой мягкую капсулу. Мягкие капсулы представляют собой капсулы, которые могут, благодаря добавкам размягчителей, таких как, например, глицерин, сорбит, мальтит и полиэтиленгликоли, присутствующих в оболочке капсулы, обладать определенной эластичностью и деформируемостью. Мягкие капсулы могут быть получены, например, на основе желатина или крахмала. Мягкие капсулы на основе желатина являются коммерчески доступными от различных поставщиков. В зависимости от способа введения, такого как, например, пероральный или ректальный, мягкие капсулы могут иметь различные формы, они могут быть, например, круглыми, овальными, продолговатыми или торпедообразными. Мягкие капсулы могут быть получены обычными способами, такими как, например, с использованием процесса Шерера (Scherer) (метод прессования), процесса Accogel (метод прессования) или капельного процесса или процесса выдувания (blowing).

Способы культивирования

Бактериальные штаммы для использования в данном изобретении могут культивироваться с использованием стандартных микробиологических методик, как описано, например, в источниках [33-35].

Твердая или жидкая среда, используемая для культуры, может быть, например, агаром YCFA (дрожжевой экстракт-гидролизат казеина-жирные кислоты) или средой YCFA. Среда YCFA может содержать (на 100 мл, приблизительные значения): казитон (1,0 г), дрожжевой экстракт (0,25 г), NaHCO_3 (0,4 г), цистеин (0,1 г), K_2HPO_4 (0,045 г), KH_2PO_4 (0,045 г), NaCl (0,09 г), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,09 г), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,009 г), CaCl_2 (0,009 г), резазурин (0,1 мг), гемин (1 мг), биотин (1 мкг), кобаламин (1 мкг), п-

аминобензойную кислоту (3 мкг), фолиевую кислоту (5 мкг) и пиридоксамин (15 мкг).

Общие положения

В практике данного изобретения будут использоваться, если не указано иное, обычные методы химии, биохимии, молекулярной биологии, иммунологии и фармакологии, доступные квалифицированным специалистам. Такие методики подробно описаны в литературе. См., например, источники [36-43] и т.д.

Термин "содержащий" охватывает "включающий", а также "состоящий из", например композиция, "содержащая" X, может состоять исключительно из X или может что-то включать дополнительно, например X+Y.

Термин "примерно" по отношению к численному значению x является необязательным и означает, например, $x \pm 10\%$.

Выражение "по существу" не исключает "полностью", например композиция, которая "по существу не содержит" Y, может совершенно не содержать Y. При необходимости, выражение "по существу" может быть опущено в формуле изобретения (definition of the invention).

Ссылки на процент идентичности последовательностей между двумя нуклеотидными последовательностями означают, что при выравнивании процентное содержание (percentage) нуклеотидов при сравнении двух последовательностей будет одинаковым. Такое выравнивание и процент гомологии или идентичности последовательностей могут быть определены с использованием компьютерных программ, известных специалистам в данной области техники, например описанных в разделе 7.7.18 источника [44]. Предпочтительное выравнивание определяют по алгоритму поиска гомологии Смита-Уотермана (Smith-Waterman) с использованием нечеткого (affine) поиска разрывов со штрафом за открытие гэпа 12 и штрафом за продолжение гэпа 2, матрицы BLOSUM 62. Алгоритм поиска гомологии Смита-Уотермана раскрыт в источнике [45].

Если не указано конкретно, процесс или способ, включающий множество стадий, может включать дополнительные стадии в начале или в конце способа или может включать дополнительные промежуточные стадии. Также, стадии могут быть объединены, пропущены или проведены в альтернативном порядке, при необходимости.

В данном документе описаны различные варианты реализации изобретения. Следует понимать, что признаки, указанные в каждом варианте реализации, могут быть объединены с другими указанными признаками для получения дополнительных вариантов реализации. В частности, варианты реализации, выделенные в данном документе как пригодные, типичные или предпочтительные, могут быть объединены друг с другом (за исключением случаев, когда они являются взаимоисключающими).

Способы осуществления изобретения

Пример 1. Изменения симптомов пациента в ходе фазы I клинических испытаний

Были проведены клинические испытания фазы I, в которых *Blautia hydrogenotrophica* ("Blautix", штамм, депонированный с номером доступа DSM 10507, а также с номером доступа DSM 14294) вводили пациентам с синдромом раздраженного кишечника (СРК). Пациентам вводили Blautix на протяжении периода дозирования (дни 1-16) с периодом вымывания в дни 19-23. Было найдено, что Blautix является безопасным и хорошо переносимым. Контролировали четыре симптома, двумя из которых были диарея и запор. В ходе исследований регистрировали, испытывали ли пациенты улучшение, отсутствие изменений или ухудшение каждого из этих симптомов. Результаты для пациентов, получавших Blautix, сравнивали с результатами, полученными для пациентов, которым вводили плацебо. Контроль симптомов проводили в три момента времени: день 1, день 15/16 и в конце испытаний. Результаты приведены на фиг. 1 и 2.

При сравнении описываемых пациентами симптомов в день 16 с базовыми показателями дня 1, 82% из 17 пациентов с СРК, получавших Blautix, сообщили об улучшении симптомов (фиг. 1). Улучшение симптомов, двумя из которых были диарея и запор, свидетельствует в пользу применения Blautix для лечения или предотвращения диареи и/или запора.

50% пациентов, получавших плацебо, сообщили об улучшении симптомов (фиг. 1). Высокие показатели реакции на плацебо являются установленным явлением в клинических исследованиях СРК. Ксифаксан (Xifaxan) недавно получил разрешение на использование для лечения СРК на основании значительно меньших улучшений по сравнению с плацебо (см.: <http://www.accessdata.fda.gov/spl/data/5ab6fceb-4d22-4480-81fc-8bc28c16770d/5ab6fceb-4d22-4480-81fc-8bc28c16770d.xml>).

На основании приведенного тут описания ожидалось ухудшение симптомов при завершении исследований (дни 19-23) по сравнению с симптомами в момент завершения введения препарата (день 16). Такое ухудшение симптомов наблюдалось в фазе I клинических испытаний: 41% пациентов с СРК сообщили об ухудшении симптомов после прекращения приема Blautix (фиг. 2). Ухудшение симптомов, двумя из которых являются диарея и запор, после прекращения приема Blautix, таким образом, также поддерживает использование Blautix при лечении или предотвращении диареи и/или запора.

Пример 2. Результаты дыхательного водородного теста

Уровни водорода в дыхании являются биомаркером активности Blautix - механизм его действия (MoA) связан с метаболизмом эндогенного H_2 для продуцирования ацетата. Людям вводили лактулозу и уровни водорода (H_2) (C_{max}) определяли в образцах, взятых в четыре момента времени: день 1, день 2,

день 15 и день 16. Нескорректированные результаты для водорода конвертировали в скорректированные результаты для водорода.

Некоторые пациенты были исключены из анализа. Было три причины, по которым субъекты не включались в анализ методом дыхательного водородного теста:

1) они имели результат дыхательного водородного теста CMAX <20 в один из четырех дней взятия образцов и потому считались не отвечающими на тест;

2) они были продуцентами метана (определялись как продуцирующие больше метана, чем водорода, по результатам дыхательного теста), это влияет на водородный ответ; и/или

3) в дыхательном водородном тесте было получено сильно отклоняющееся значение (232 ppm). Субъекты 3.12 (Blautix), 3.24 (Blautix), 4.07 (Blautix) были исключены как не отвечающие. Субъекты 3.03 (Blautix) и 3.08 (плацебо) были исключены как продуценты метана (4.07, указанный как исключенный выше, был также продуцентом метана). Субъект 4.09 (плацебо) был исключен из-за сильно отклоняющегося значения.

Скорректированные результаты анализа водорода для конца периода дозирования (дни 15/16) сравнивали с исходным уровнем (дни 1/2). У 10 из 12 пациентов (83%), получавших Blautix, наблюдалось снижение уровней водорода за этот период (фиг. 3а и 3с). В отличие от этого, пониженные уровни водорода были у 3 из 6 (50%) пациентов, получавших плацебо (фиг. 3b и 3с). Такие процентные соотношения являются схожими с процентами пациентов, демонстрирующих улучшение симптомов после лечения с использованием Blautix или введения плацебо.

Фиг. 4 показывает нескорректированные и скорректированные результаты определения водорода для группы, получавшей Blautix (Verum (препарат, содержащий действующие вещества)), вместе со статистическим анализом результатов. Было обнаружено, что средние значения для нескорректированного и скорректированного H₂ различаются между днем 1 и днем 15. После 13,5 дней лечения детектировалось статистически значимое ($p < 0,05$) снижение H₂ в дыхательном тесте с определением Cmax после стимуляции лактулозой. В отличие от этого, в группе плацебо средние значения для дня 1 и дня 15 были эквивалентными ($p > 0,05$) (фиг. 5). Таким образом, среднее значение в экспериментальной группе (также называемой группой VERUM) снижается между днем 1 и днем 15, тогда как среднее значение в группе плацебо является эквивалентным в день 1 и день 15 как для нескорректированных результатов определения водорода, так и для скорректированных результатов определения водорода (фиг. 6).

Пример 3. Испытания на стабильность

Композицию, описанную в данном документе, содержащую по меньшей мере один бактериальный штамм, описанный в данном документе, хранят в запечатанном контейнере при температуре 25°C или 4°C и контейнер помещают в атмосферу с относительной влажностью 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 90% или 95%. По истечении 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 6 месяцев, 1 года, 1,5 лет, 2 лет, 2,5 лет или 3 лет должно сохраняться по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80% или 90% бактериального штамма, по результатам измерения колониеобразующих единиц в соответствии со стандартными протоколами.

Последовательности

SEQ ID NO: 1 (Ген 16s рибосомальной РНК штамма GAM6-1 *Blautia stercoris*, частичная последовательность - HM626177)

```

1   tgcaagtcga   gcgaagcgct   tacgacagaa   ccttcggggg   aagatgtaag
   ggactgagcg
61   gcggacgggt   gagtaacgcg   tgggtaacct   gcctcataca   gggggataac
   agttggaac
121  ggctgctaata  accgcataag   cgcacggtat   cgcatgatac   agtgtgaaaa
   actccggtgg
181  tatgagatgg   acccgctctt   gattagctag   ttggaggggt   aacggcccac
   caaggcgacg
241  atcagtagcc   ggctgagag   ggtgaacggc   cacattggga   ctgagacacg
   gcccagactc
301  ctacggggagg   cagcagtggg   gaatattgca   caatggggga   aaccctgatg
   cagcgacgcc
361  gcgtgaagga   agaagtatct   cggtatgtaa   acttctatca   gcagggaaga
   aaatgacggt
421  acctgactaa   gaagccccgg   ctaactacgt   gccagcagcc   gcggtaatac
   gtagggggca
481  agcgttatcc   ggatttactg   ggtgtaaagg   gagcgtagac   ggaagagcaa
   gtctgatgtg
541  aaaggctggg   gcttaacccc   aggactgcat   tggaactgt   ttttcttgag
   tgccggagag
601  gtaagcgga   ttcctagtgt   agcggtgaaa   tgcgtagata   ttaggaggaa
   caccagtggc
661  gaaggcggct   tactggacgg   taactgacgt   tgaggctcga   aagcgtgggg
   agcaaacagg
721  attagatacc   ctggtagtcc   acgccgtaaa   cgatgaatac   taggtgttgg
   ggagcaaagc
781  tcttcggtgc   cgcagcaaac   gcaataagta   ttccacctgg   ggagtacggt
   cgcaagaatg
841  aaactcaaag   gaattgacgg   ggacccgcac   aagcggtgga   gcatgtggtt
   taattcgaag
901  caacgcgaag   aacottacca   agtcttgaca   tcgatctgac   cggttcgtaa
   tggaaccttt
961  ccttcgggac   agagaagaca   ggtggtgcat   ggttgctcgtc   agctcgtgtc
   gtgagatggt
1021 ggggtaagtc   ccgcaacgag   cgcaaccct   atcctcagta   gccagcagg
   gaagctgggc
1081 actctgtgga   gactgccagg   gataacctgg   aggaaggcgg   ggacgacgtc
   aatcatcat
1141 gcccttatg   atttgggcta   cacacgtgct   acaatggcgt   aaacaaagg
   aagcgagccc
1201 gcgaggggga   gcaaatccca   aaaataacgt   ccagttcgg   actgcagtct
   gcaactcgac
1261 tgcacgaagc   tggaatcgct   agtaatcgcg   aatcagaatg   tcgcggtgaa
   tacgttccc
1321 ggtctgttac   acaccgccg   tcacaccatg   ggagtcagta   acgcccgaag   tc

```

SEQ ID NO: 2 (Ген 16s рибосомальной РНК штамма WAL 14507 *Blautia wexlerae*, частичная последовательность - EF036467)

```

1   caagtcgaac   gggaattant   ttattgaaac   ttcggtcgat   ttaatttaat
tctagtggcg
61   gacgggtgag   taacgcgtgg   gtaacctgcc   ttatacaggg   ggataacagt
cagaaatggc
121  tgctaatacc   gcataagcgc   acagagctgc   atggctcagt   gtgaaaaact
ccggtggtat
181  aagatggacc   cgcgttgat   tagcttggtg   gtggggtaac   ggcccaccaa
ggcgacgac
241  catagccggc   ctgagagggt   gaacggccac   attgggactg   agacacggcc
cagactccta
301  cgggagcgag   cagtggggaa   tattgcacaa   tgggggaaac   cctgatgcag
cgacgccg
361  tgaaggaaga   agtatctcgg   tatgtaaact   tctatcagca   gggaagatag
tgacggtacc
421  tgactaagaa   gccccggcta   actacgtgcc   agcagccgcg   gtaatacgta
gggggcaagc
481  gttatccgga   tttactgggt   gtaaaggagg   cgtagacggg   gtggcaagtc
tgatgtgaaa
541  ggcattgggt   caacctgtgg   actgcattgg   aaactgtcat   acttgagtgc
cggaggggta
601  agcgaattc   ctagtgtagc   ggtgaaatgc   gtagatatta   ggaggaacac
cagtggcgaa
661  ggcggcttac   tggacggtaa   ctgacgttga   ggctcgaaag   cgtggggagc
aaacaggatt
721  agataccctg   gtagtccacg   ccgtaaacga   tgaataacta   ggtgtcgggt
ggcaaagcca
781  ttcggtgccg   tcgcaaacgc   agtaagtatt   ccacctgggg   agtacgttcg
caagaatgaa
841  actcaaagga   attgacgggg   accgcacaaa   gcggtggagc   atgtggttta
attcgaagca
901  acgcaagaa   ccttaccaag   tcttgacatc   cgctgaccg   atccttaacc
ggatctttcc
961  ttcgggacag   gcgagacagg   tgggtgcatg   ttgtcgtcag   ctctgtcgtg
gagatgttgg
1021 gttaagtccc   gcaacgagcg   caaccctat   cctcagtagc   cagcatttaa
ggtgggcact
1081 ctggggagac   tgccagggat   aacctggagg   aaggcgggga   tgacgtcaaa
tcatcatgcc
1141 ccttatgatt   tgggctacac   acgtgctaca   atggcgtaaa   caaagggaag
cgagattgtg
1201 agatggagca   aatcccaaaa   ataacgtccc   agttcggact   gtagtctgca
acccgactac
1261 acgaagctgg   aatcgctagt   aatcgcgat   cagaatgccg   cggatgaatac
gttcccgggt
1321 ctgttacaca   ccgccgtca   caccatggga   gtcagtaacg   ccgaagtca
gtgacctaac
1381 tgcaagaag   gagctgccga   aggcgggacc   gatgactggg   gtgaagtcgt
aacaaggt

```

SEQ ID NO: 3 (Консенсусная последовательность 16s рРНК штамма 830 *Blautia stercoris*)

TTTKGTCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGAAGCGCTT
 ACGACAGAACCTTCGGGGGAAGATGTAAGGGACTGAGCGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGGT
 AACCTGCCTCATACAGGGGGATAACAGTTGGAACGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGTA
 TCGCATGATACAGTGTGAAAACTCCGGTGGTATGAGATGGACCCGCGTCTGATTAGCTAGTTG
 GAGGGGTAACGGCCACCAAGGCGACGATCAGTAGCCGGCTGAGAGGGTGAACGGCCACATTG
 GGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAA
 ACCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAGG
 GAAGAAAATGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAATA
 CGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGAAGAGCAAGTC
 TGATGTGAAAGGCTGGGGCTTAACCCAGGACTGCATTGGAAACTGTTTTCTTGAGTGCCGGA
 GAGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAAGTGGCG
 AAGGCGGCTTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG
 ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTTGGGGAGCAAAGCTCTTCGGTG
 CCGCAGCAAACGCAATAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGAATGAACTCAAAGGAA
 TTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTAC
 CAAGTCTTGACATCGATCTGACCGGTTCTGTAATGGAACCTTCTTCGGGACAGAGAAGACAGG
 TGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
 CCCATCGTCAGTAGCCAGCAGGTAAAGCTGGGCACCTCTGAGGAGACTGCCAGGGATAACCTGG
 AGGAAGGCGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAA
 TGCGGTAAACAAAGGAAGCGAGCCCGGAGGGGGAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGTTTC
 GGACTGCACTGCAACTCGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTC
 GCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGCC
 GAAGTCAGTGACCCAACCTTAGGGAGGGAGCTGCCGAAGCGGGATTGATACTGGGGTGAAGT
 CTAGGGGGT

SEQ ID NO: 4 (Консенсусная последовательность 16s рРНК штамма MRX008 *Blautia wexlerae*)

TTCATTGAGACTTCGGTGGATTTAGATTCTATTCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGTGGG
 TAACCTGCCTTATACAGGGGGATAACAGTCAGAAATGGCTGCTAATACCGCATAAGCGCACAGA
 GCTGCATGGCTCAGTGTGAAAACTCCGGTGGTATAAGATGGACCCGCGTTGGATTAGCTTGTT
 GGTGGGGTAACGGCCCAAGGCGACGATCCATAGCCGCGCTGAGAGGGTGAACGGCCACATT
 GGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGA
 AACCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAAGGAAGAAGTATCTCGGTATGTAACTTCTATCAGCAG
 GGAAGATAGTGACGGTACCTGACTAAGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAT
 ACGTAGGGGGCAAGCGTTATCCGGATTTACTGGGTGTAAAGGGAGCGTAGACGGTGTGGCAAGT
 CTGATGTGAAAGGCATGGGCTCAACCTGTGGACTGCATTGGAACTGTCATACTTGAGTGCCGG
 AGGGGTAAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATTAGGAGGAACACCAAGTGGC
 GAAGCGGCTTACTGGACGGTAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA
 GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTCNNGGGAGCATGGCTCTTCGG
 TGCCGTCGCAAACGCAGTAAGTATTCACCTGGGGAGTACGTTGCAAGAATGAACTCAAAGG
 AATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT
 TACCAAGTCTTGACATCCGCTGACCGATCCTTAACCGGATCTTTCCTTCGGGACAGGCGAGAC
 AGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
 AACCCCTATCCTCAGTAGCCAGCATTAAAGGTGGGCACTCTGGGAGACTGCCAGGGATAACCT
 GGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTAC
 AATGGCGTAAACAAAGGAAGCGAGATCGTGAGATGGAGCAAATCCAAAAATAACGTCCAGT
 TCGGACTGTAGTCTGAACCCGACTACACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATG
 CCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTCAGTAACGC
 CCAAGTCAGTGACCTAACTGCAAAGAAGGAGCTGCCGAA

SEQ ID NO: 5 (Ген 16s рибосомальной РНК штамма S5a36 *Blautia hydrogenotrophica*, частичная последовательность - X95624.1)

```

1  gatgaacgct ggcgcgctgc ttaacacatg caagtcgaac gaagcgatag
agaacggaga
61  ttctcggttga agttttctat tgactgagtg gcggacgggt gagtaacgcg
tgggtaacct
121  gccctataca gggggataac agttagaaat gactgctaata accgcataag
cgcacagctt
181  cgcatagaagc ggtgtgaaaa actgaggtgg tataggatgg acccgcggtg
gattagctag
241  ttggtgaggt aacggcccac caaggcgacg atccatagcc ggcctgagag
ggtgaacggc
301  cacattggga ctgagacacg gcccaaactc ctacgggagg cagcagtggg
gaatattgca
361  caatggggga aaccctgatg cagcgacgcc gcgtgaagga agaagtatct
cggatatgaa
421  acttctatca gcagggaaga aagtacgggt acctgactaa gaagccccgg
ctaattacgt
481  gccagcagcc gcggaataac gtaaggggca agcgttatcc ggatttactg
ggtgtaaagg
541  gagcgtagac ggtttggcaa gtctgatgtg aaaggcatgg gctcaacctg
tggactgcat
601  tggaaactgt cagacttgag tgccggagag gcaagcgaa ttcttagtgt
agcggtgaaa
661  tgcgtagata ttaggaggaa caccagtggc gaaggcgccc tgctggacgg
taactgacgt
721  tgaggctcga aagcgtgggg agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc
acgctgtaaa
781  cgatgaatac taggtgtcgg gtggcaaagc cattcgggtc cgcagcaaac
gcaataagta
841  ttcccacctg gggagtacgt tcgcaagaat gaaactcaaa ggaattgacg
gggacccgca
901  caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgaa gcaacgcgaa gaaccttacc
aaatcttgac
961  atccctctga ccgggaagta atgttcctt ttcttcggaa cagaggagac
aggtggtgca
1021  tggttgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga
gcgcaaccct
1081  tatlcttlayt agccagcagg tagagctggg cactctaggg agactgcccag
ggataacctg
1141  gaggaagggtg gggatgacgt caaatcatca tgcccccttat gatttgggct
acacacgtgc
1201  tacaatggcg taaacaaagg gaagcgaagg ggtgacctgg agcaaatctc
aaaaataacg
1261  tctcagttcg gattgtagtc tgcaactcga ctacatgaag ctggaatcgc
tagtaatcgc
1321  gaatcagaat gtcgcggtga atacgttccc gggctcttgta cacaccgccc
gtcacaccat
1381  gggagtcagt aacgcccgaa gtcagtgacc caaccnaag gagggagctg
ccgaagggtg
1441  gactgataac tgggggtga

```

Список литературы

- [1] Spor et al. (2011) *Nat Rev Microbiol*. 9(4):279-90.
- [2] Eckburg et al. (2005) *Science*. 10;308(5728):1635-8.
- [3] Tap et al. (2009) *Environ Microbiol*, 11(10):2574-84
- [4] Macpherson et al. (2001) *Microbes Infect*. 3(12):1021-35
- [5] Macpherson et al. (2002) *Cell Mol Life Sci*. 59(12):2088-96.
- [6] Mazmanian et al. (2005) *Cell* 15;122(1):107-18.
- [7] Frank et al. (2007) *PNAS* 104(34):13780-5.
- [8] Scanlan et al. (2006) *J Clin Microbiol*. 44(11):3980-8.
- [9] Kang et al. (2010) *Inflamm Bowel Dis*. 16(12):2034-42.
- [10] Machiels et al. (2013) *Gut*. 63(8):1275-83.
- [11] Lopetuso et al. (2013), *Gut Pathogens*, 5: 23
- [12] WO 2013/050792
- [13] WO 03/046580
- [14] WO 2013/008039
- [15] WO 2014/167338
- [16] Lee and Lee (2014) *World J Gastroenterol*. 20(27): 8886-8897.
- [17] Liu et al. (2008) *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1896-1902.
- [18] Bernalier et al. (1996) *Arch. Microbiol*. 166 (3), 176-183.
- [19] Park et al. (2012) *Int J Syst Evol Microbiol*. 62(Pt 4):776-9.
- [20] Masco et al. (2003) *Systematic and Applied Microbiology*, 26:557-563.
- [21] Srůtková et al. (2011) *J. Microbiol. Methods*, 87(1):10-6.
- [22] Darfeuille-Michaud et al. (2004) *Gastroenterology* 127(2):412-21.
- [23] Strus et al. (2015) *Cent Eur J Immunol*. 40(4):420-30.
- [24] Petersen et al. (2015) *Scand J Gastroenterol.*;50(10):1199-207.
- [25] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 54, 9-24.

- [26] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. by Day and McLellan, Humana Press.
- [27] Leslie et al. (1995) *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3592-3597.
- [28] Mitropoulou et al. (2013) *J Nutr Metab.* (2013) 716861.
- [29] Kailasapathy et al. (2002) *Curr Issues Intest Microbiol.* 3(2):39-48.
- [30] Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJ Weller
- [31] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985)
- [32] US 2016/0067188
- [33] *Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition* (2010) Ronald Atlas, CRC Press.
- [34] *Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry* (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press
- [35] Strobel (2009) *Methods Mol Biol.* 581:247-61.
- [36] Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. 20th edition, ISBN: 0683306472.
- [37] *Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course*, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press).
- [38] *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
- [39] *Handbook of Experimental Immunology*, Vols. I IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)
- [40] Sambrook et al. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [41] *Handbook of Surface and Colloidal Chemistry* (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
- [42] Ausubel et al. (eds) (2002) *Short protocols in molecular biology*, 5th edition (Current Protocols).
- [43] *PCR (Introduction to Biotechniques Series)*, 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
- [44] *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement 30
- [45] Smith & Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая бактериальный штамм *Blautia hydrogenotrophica* DSM 14294, имеющий последовательность гена 16s рPHK SEQ ID NO: 5, и/или штамм бактерий рода *Blautia*, имеющий последовательность гена 16s рPHK, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 5, для лечения или предотвращения диареи и/или запора у субъекта.
2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что диарея и/или запор ассоциированы

с синдромом раздраженного кишечника СРК и/или воспалительным заболеванием кишечника.

3. Фармацевтическая композиция по п.2, отличающаяся тем, что воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь тонкого кишечника или толстого кишечника, в частности прямой кишки.

4. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-3, отличающаяся тем, что воспалительное заболевание кишечника представляет собой болезнь Крона или язвенный колит.

5. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что субъект страдает от боли в животе и/или метеоризма.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-5, отличающаяся тем, что штамм бактерий рода *Blautia* имеет последовательность гена 16s рРНК, по меньшей мере на 97%, 98%, 99%, 99,5% или 99,9% идентичную SEQ ID NO: 5.

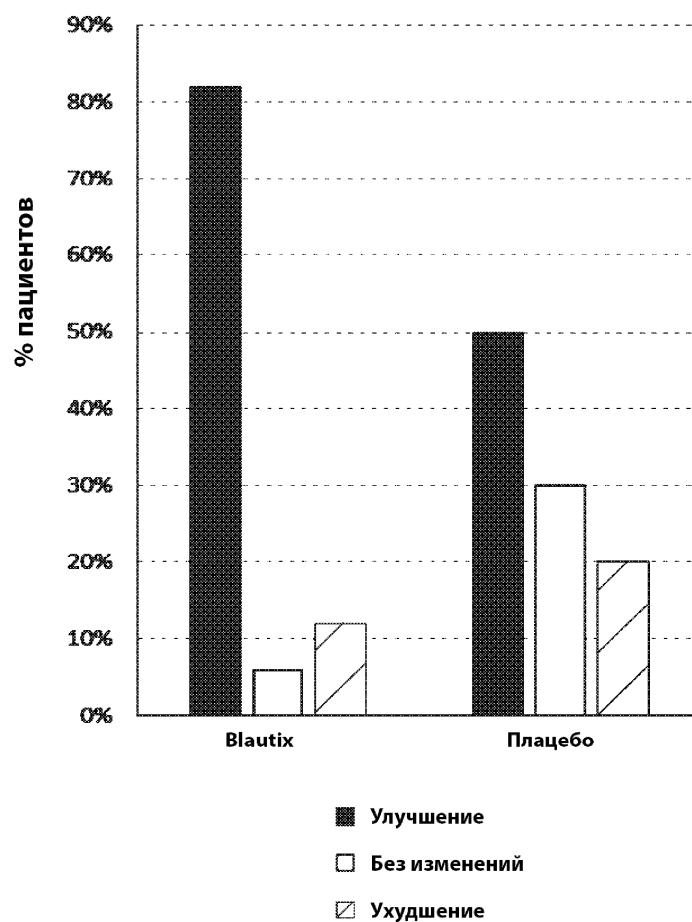
7. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-6, предназначенная для перорального введения.

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-7, содержащая один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов, в частности носителей.

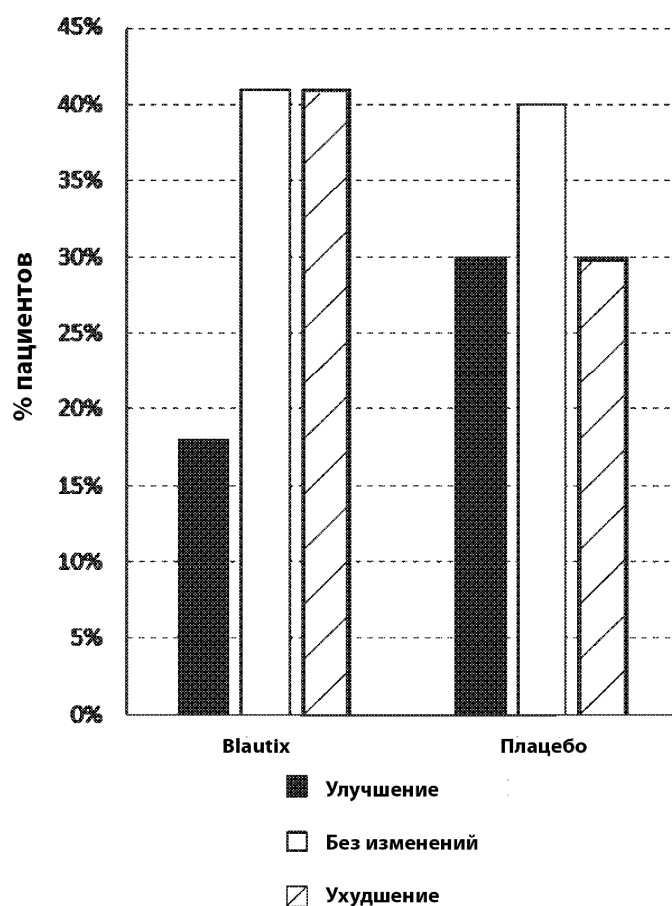
9. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-8, отличающаяся тем, что бактериальный штамм является лиофилизированным или нативным.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что композиция содержит один штамм бактерий рода *Blautia*.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-8, отличающаяся тем, что композиция содержит бактериальный штамм *Blautia hydrogenotrophica* DSM 14294, имеющий последовательность гена 16s рРНК SEQ ID NO: 5, и штамм бактерий рода *Blautia*, имеющий последовательность гена 16s рРНК, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 5.



Фиг. 1



Фиг. 2

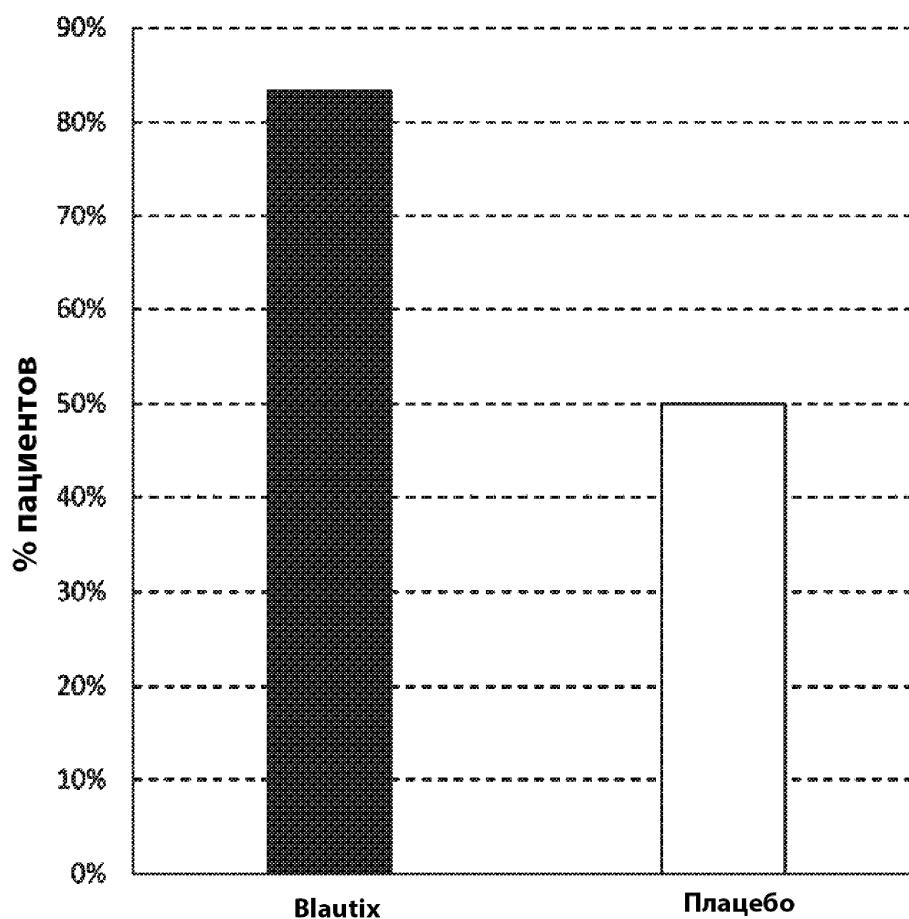
	День 1	День 2	Среднее	День 15	День 16	Среднее		Разность
Пациент №	Стах	Стах		Стах	Стах			Стах
3.02	123.0	94.0	108.5	34.0	74.0	54.0		-54.5
3.04	70.0	32.0	51.0	25.0	46.0	35.5		-15.5
3.05	163.0	116.0	139.5	167.0	111.0	139.0		-0.5
3.07	71.0	69.0	70.0	46.0	80.0	63.0		-7.0
3.09	121.0	76.0	98.5	66.0	65.0	65.5		-33.0
3.11	75.0	98.0	86.5	128.0	76.0	102.0		15.5
3.13	118.0	41.0	79.5	85.0	59.0	72.0		-7.5
3.15	155.0	99.0	127.0	63.0	87.0	75.0		-52.0
3.17	134.0	210.0	172.0	139.0	107.0	123.0		-49.0
3.19	72.0	53.0	62.5	87.0	85.0	86.0		23.5
3.21	144.0	139.0	141.5	75.0	126.0	100.5		-41.0
3.22	59.0	71.0	65.0	55.0	34.0	44.5		-20.5
Среднее	108.8	91.5	100.1	80.8	79.2	80.0		-20.1
СКО	37.3	48.4		43.5	26.7			26.2
Медиана	119.5	85.0		70.5	78.0			-18.0
							Пациенты со снижением H ₂	10 (83%)

H₂

Фиг. 3а Blautix - 10/12 продемонстрировали снижение уровня водорода (83%)

	День 1	День 2	Среднее		День 15	День 16	Среднее		Разность
Пациент №	Смах	Смах			Смах	Смах			Смах
3.06	126.0	91.0	108.5		86.0	131.0	108.5		0.0
3.10	124.0	168.0	146.0		107.0	88.0	97.5		-48.5
3.14	55.0	79.0	67.0		53.0	68.0	60.5		-6.5
3.16	98.0	123.0	110.5		123.0	151.0	137.0		26.5
3.23	58.0	113.0	85.5		79.0	99.0	89.0		3.5
4.13	58.0	69.0	63.5		25.0	38.0	31.5		-32.0
Среднее	86.5	107.2	96.8		78.8	95.8	87.3		-9.5
СКО	33.8	36.0	31.2		35.7	41.2	37.0		26.8
Медиана	78.0	102.0	97.0		82.5	93.5	93.3		-3.3
								Пациенты со снижением H ₂	3 (50%)

Фиг. 3b Плацебо - 3/6 продемонстрировали снижение уровня водорода (50%)



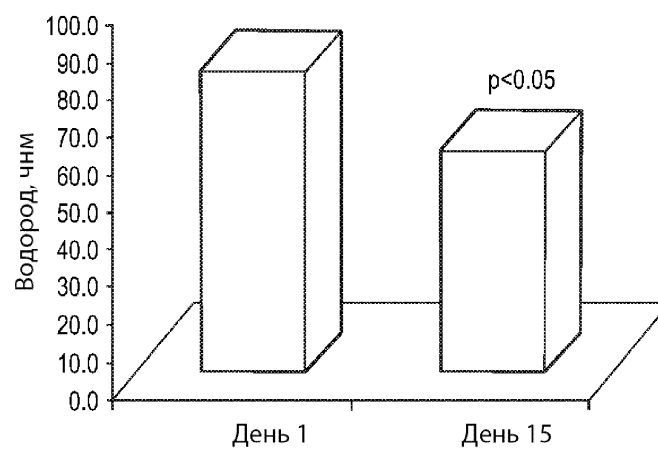
Фиг. 3с

Группа VERUM

случайный номер	день 1 Сmax	день 15 Сmax			Н2, скорректированный	случайный номер	день 1 Сmax	день 15 Сmax		
3.02	89.8	23.0				3.02	123.0	34.0		
3.04	68.0	21.0				3.04	70.0	25.0		
3.05	130.4	112.8				3.05	163.0	167.0		
3.07	56.8	37.6				3.07	71.0	46.0		
3.09	96.8	52.8				3.09	121.0	66.0		
3.11	63.0	104.9				3.11	75.0	128.0		
3.12	12.3	38.7				3.12	16.0	53.0		
3.13	110.3	82.5				3.13	118.0	85.0		
3.15	115.7	53.8				3.15	155.0	63.0		
3.17	97.8	83.7				3.17	134.0	139.0		
3.19	51.1	66.1				3.19	72.0	87.0		
3.21	144.0	71.4				3.21	144.0	75.0		
3.22	52.7	43.9				3.22	59.0	55.0		
3.24	27.1	26.7				3.24	29.0	27.0		
		Т-критерий, односторонний	0.02032643					Т-критерий, односторонний	0.04798585	
среднее	день 1 79.7	день 15 58.5				среднее	день 1 96.4	день 15 75.0		
СКО	38.7	29.5				СКО	46.5	43.0		
н	14	14				н	14	14		
медиана	78.9	53.3				медиана	96.5	64.5		
мин.	12.3	21.0				мин.	16.0	25.0		
макс.	144.0	112.8				макс.	163.0	167.0		

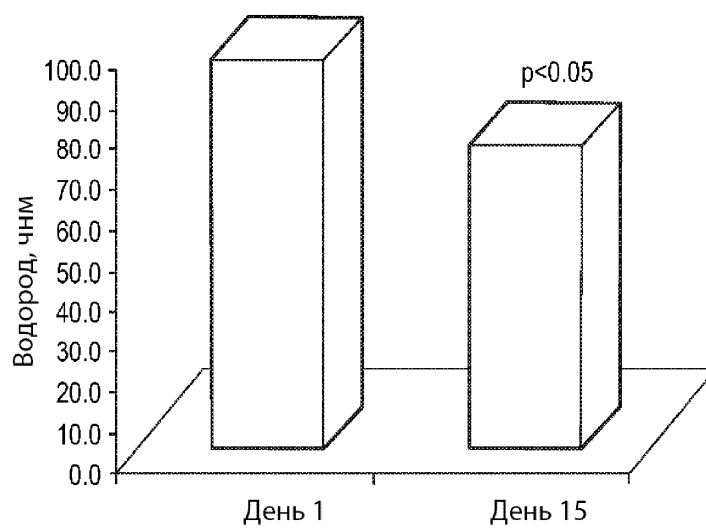
Фиг. 4а

Водород, нескорректированный



Фиг. 4б

Водород, скорректированный



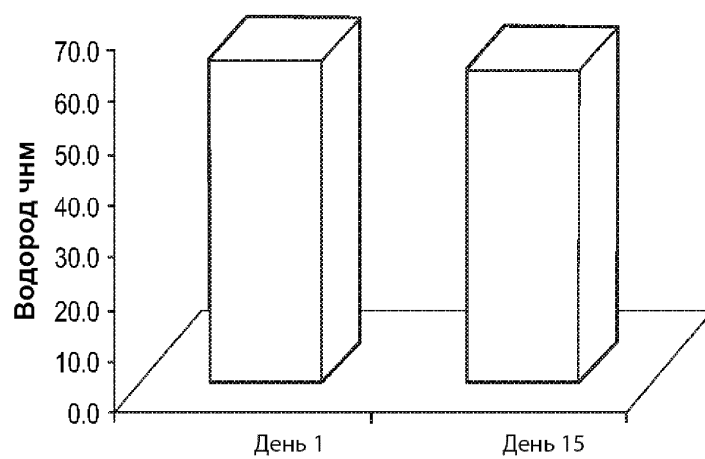
Фиг. 4с

Группа плацебо

случайный	день 1	день 15			Н2, скорректированный	случайный	день 1	день 15	
номер	Смах	Смах				номер	Смах	Смах	
3.06	103.3	81.9				3.06	126.0	86.0	
3.08	42.3	43.3				3.08	55.0	58.0	
3.10	97.6	84.3				3.10	124.0	107.0	
3.14	35.0	42.4				3.14	55.0	53.0	
3.16	59.0	80.9				3.16	98.0	123.0	
3.23	41.1	62.2				3.23	58.0	79.0	
4.13	53.2	25.0				4.13	58.0	25.0	
		Т-критерий, односторонний	0.41620609					Т-критерий, односторонний	0.27096549
	день 1	день 15					день 1	день 15	
среднее	61.7	60.0				среднее	82.0	75.9	
СКО	27.7	23.5				СКО	33.1	33.5	
N	7	7				N	7	7	
медиана	53.2	62.2				медиана	58.0	79.0	
мин.	35.0	25.0				мин.	55.0	25.0	
макс.	103.3	84.3				макс.	126.0	123.0	

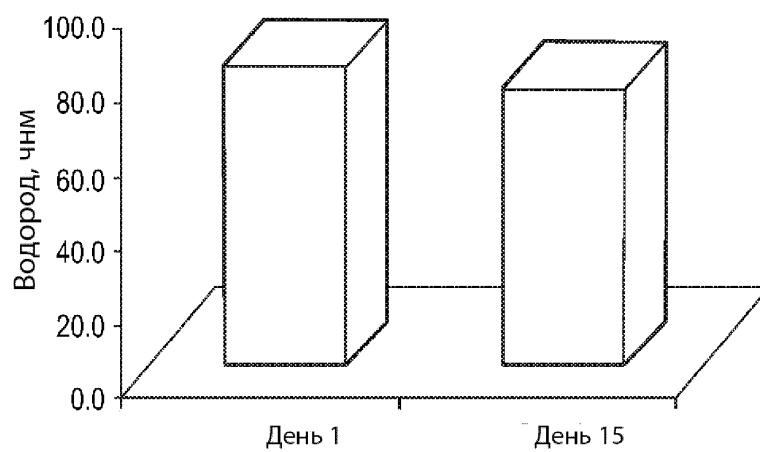
Фиг. 5а

**Нескорректированный уровень
водорода - плацебо**



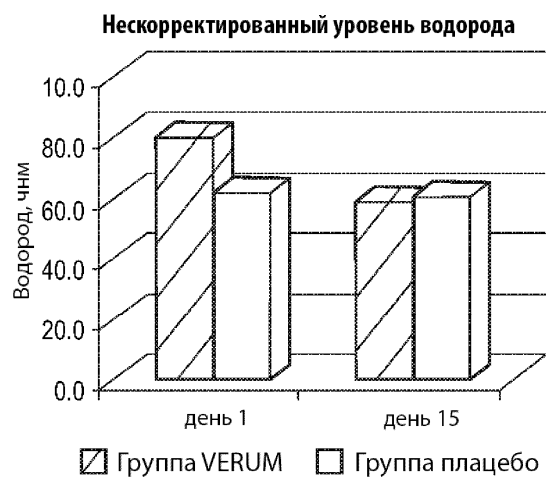
Фиг. 5b

Скорректированный уровень водорода - плацебо



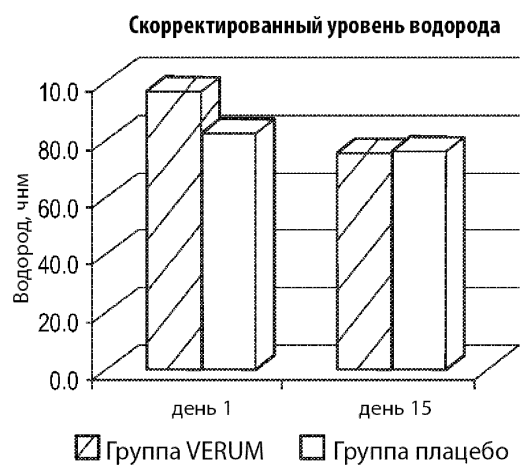
Фиг. 5с

	день 1	день 15	N
Группа VERUM	79.7	58.5	14
Группа плацебо	61.7	60	7



Фиг. 6a

	день 1	день 15	N
Группа VERUM	96.4	75	14
Группа плацебо	82	75.9	7



Фиг. 6b

