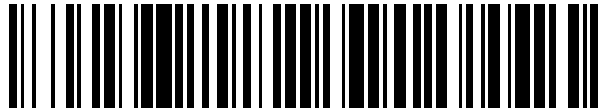


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 541**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/36** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2010 E 10722756 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2013 EP 2437784**

54 Título: **Oligómeros de alginato para usar para superar la multirresistencia a fármacos en bacterias**

30 Prioridad:

**03.06.2009 GB 0909557**

**07.08.2009 GB 0913829**

**14.10.2009 GB 0917995**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.02.2014**

73 Titular/es:

**ALGIPHARMA AS (100.0%)**

**Industriveien 33**

**1337 Sandvika, NO**

72 Inventor/es:

**ONSØYEN, EDVAR;**

**MYRVOLD, ROLF;**

**DESSEN, ARNE;**

**THOMAS, DAVID y**

**WALSH, TIMOTHY**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 444 541 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Oligómeros de alginato para usar para superar la multiresistencia a fármacos en bacterias

La presente invención se refiere a oligómeros de alginato para usar junto con (o en combinación o en conjunto con) un antibiótico para superar (en el sentido de reducir) la resistencia al antibiótico en una bacteria multiresistente (MDR). Aunque el uso principal e importante de la presente invención es en el tratamiento o prevención de infecciones bacterianas con bacterias MDR, en concreto un uso médico, la invención también abarca el uso de dichos oligómeros de alginato en marcos no médicos (p. ej., in vitro). Por lo tanto, la invención proporciona oligómeros de alginato para usar junto con (o en combinación o en conjunto con) un antibiótico para el tratamiento o prevención de una infección bacteriana MDR en un sujeto, o para combatir bacterias resistentes MDR in vitro (por ejemplo, para combatir la contaminación microbiana (es decir, colonización) de un sitio abiótico con bacterias MDR).

Desde que se usaron los antibióticos por primera vez, se observó que las bacterias podrían presentar resistencia intrínseca a esos fármacos o podían desarrollar resistencia a esos fármacos. La resistencia de una bacteria a un antibiótico se puede ver como una tolerancia sustancialmente mayor, o menor susceptibilidad, al antibiótico comparado con una bacteria sensible o una versión típica o natural de la bacteria. En algunos casos una bacteria puede resultar totalmente inafectada por la exposición a un antibiótico. En este caso, la bacteria se puede considerar totalmente resistente a ese antibiótico.

La multiresistencia (MDR) en bacterias describe la situación donde una bacteria es resistente a al menos tres clases de fármacos, específicamente en el contexto de bacterias, al menos tres clases de agentes antimicrobianos (o más específicamente antibacterianos), y en particular en el contexto de la presente invención, al menos tres clases de antibióticos. Los antibióticos en una clase no están funcionalmente relacionados, estructuralmente relacionados o ambos, con los antibióticos en una clase diferente. Por lo tanto, la MDR en bacterias se denomina a menudo multiresistencia a antibacterianos o multiresistencia a antibióticos. Las expresiones se usan de forma intercambiable en la técnica y en la presente memoria. Se prefieren las bacterias que presentan fenotipos de multiresistencia (o fenotipos de multiresistencia a fármacos antibacterianos/antibióticos) respecto a las bacterias MDR (o a veces bacterias MAR). Otra vez, estos términos se usan de forma intercambiable en la técnica y en la presente memoria.

Los mecanismos de resistencia a antibióticos son numerosos. Por ejemplo, la resistencia puede proceder de mecanismos de impermeabilidad que previenen físicamente que el antibiótico llegue a su sitio de acción en o sobre la bacteria; mecanismos de eflujo que previenen que lleguen cantidades eficaces del antibiótico a su sitio de acción en o sobre la bacteria mediante la eliminación rápida del antibiótico de la bacteria; mecanismos metabólicos que rompen el antibiótico o convierten el antibiótico en un compuesto inofensivo (o menos dañino), o un compuesto excretado más fácilmente; mecanismos de derivación en los que la bacteria usa rutas alternativas a las inhibidas por el antibiótico; o teniendo la bacteria una forma del objetivo del antibiótico (p. ej., enzima) que es menos sensible al antibiótico o no teniendo el objetivo en absoluto.

La resistencia a un antibiótico particular o clase de antibiótico puede ser intrínseca a la bacteria, pero también puede ser desarrollada o adquirida. En general, la resistencia intrínseca puede verse a un tipo o clase particular de antibiótico, pero el número de diferentes clases de antibióticos en los que se ve resistencia normalmente es restringido. La resistencia a numerosas clases de antibióticos (incluyendo a múltiples clases de antibióticos, que se define en la presente memoria como a al menos tres clases de antibióticos) puede ser un fenómeno adquirido (o desarrollado), pero no es exclusivamente el caso. Por lo tanto, en el caso de las bacterias MDR, las bacterias pueden adquirir o desarrollar resistencia a clases particulares de antibióticos (p. ej., a una o más o dos o más clases, por ejemplo clases adicionales, o a 3 o más clases), o en algunos casos, las bacterias pueden ser intrínsecamente resistentes a múltiples clases. El fenotipo resistente de las bacterias MDR puede diferir de las bacterias típicas o naturales, pero algunas bacterias se pueden considerar MDR teniendo en cuenta su perfil de resistencia intrínseca, p. ej., especies de *Burkholderia* incluyendo *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei* y *Burkholderia pseudomallei*.

El desarrollo (o adquisición) de resistencia puede ser a través de mutación. Por ejemplo, esto puede implicar cambios en la estructura del objetivo del antibiótico que reducen la sensibilidad del objetivo al antibiótico. También puede ser una mutación en una ruta implicada en la regulación de la maquinaria celular implicada en el metabolismo o eflujo del antibiótico. También puede ser una mutación en los constituyentes de las capas externas (p. ej., las membranas/paredes) de la bacteria que afecta a la permeabilidad del antibiótico en la bacteria. En algunos casos, se deben acumular múltiples mutaciones con el fin de que una bacteria se convierta en resistente a un antibiótico particular o una clase del mismo.

El desarrollo de resistencia también puede ser a través de la transferencia de un mecanismo de resistencia de otro organismo, p. ej., otra bacteria (esto a veces se denomina resistencia adquirida, pero como se usa en la presente memoria, la expresión "resistencia adquirida" incluye cualquier medio o mecanismo por el que aparece la resistencia, incluyendo por transferencia o por mutación). Esto normalmente, aunque no exclusivamente, es por la transferencia de organismo a organismo de ácidos nucleicos móviles que codifican el mecanismo de resistencia (p. ej.,  $\beta$ -lactamasa).

Como consecuencia de la presión selectiva inherente que los antibióticos ejercen en una población bacteriana, el uso de antibióticos selecciona los miembros resistentes de esta población. Por lo tanto, el uso secuencial de diferentes antibióticos en un régimen de tratamiento puede dar lugar a bacterias MDR.

5 Ahora existen muchas especies y cepas de bacterias MDR. Los géneros de bacterias cuyas especies y cepas MDR presentan problemas importantes para la salud humana y animal incluyen, pero no se limitan a pseudomonas, acinetobacter, burkholderia, klebsiella, providencia y estafilococos.

10 Pseudomonas es un género de bacterias gram negativas aeróbicas, de virulencia relativamente baja. Sin embargo, las especies de pseudomonas pueden actuar como patógenos oportunistas y se han descrito infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas anguilliseptica* y *Pseudomonas plecoglossicida*.

*P. plecoglossicida* y *P. anguilliseptica* son patógenos de peces. *P. oryzihabitans* puede ser un patógeno humano que causa peritonitis, endoftalmítis, septicemia y bacteriemia. Infecciones similares pueden ser causadas por *P. luteola*. Sin embargo, la mayoría de las infecciones de pseudomonas en seres humanos son causadas por *P. aeruginosa*.

15 *P. aeruginosa* es una bacteria muy extendida y extremadamente versátil que se puede considerar una parte de la flora natural de un sujeto sano y es capaz de colonizar la mayoría de los entornos artificiales. Esta ubicuidad y versatilidad se han visto en la colonización de entornos sanitarios por *P. aeruginosa*. Es un problema, el que la misma versatilidad permite que *P. aeruginosa* actúe como un patógeno humano oportunista en sujetos deteriorados, más habitualmente en pacientes inmunocomprometidos (p. ej., aquellos con fibrosis quística o SIDA) y pacientes con una barrera comprometida frente a infecciones (p. ej., aquellos con heridas u quemaduras crónicas y aquellos con dispositivos médicos permanentes tales como líneas intravenosas, catéteres urinarios, catéteres de diálisis, tubos endotraqueales).

20 La infección por *P. aeruginosa* puede afectar a partes del cuerpo muy diferentes, pero las infecciones típicamente se dirigen al tracto respiratorio, el tracto GI, el tracto urinario y heridas y quemaduras superficiales y dispositivos médicos permanentes. Este problema se complica por la presencia de resistencia intrínseca a muchos antibióticos β-lactámicos. También se ha informado de la resistencia adquirida de determinadas cepas a antibióticos adicionales. La capacidad de determinadas cepas de *P. aeruginosa* para formar biopelículas se añade a estos problemas porque las bacterias residentes en biopelículas a menudo son más resistentes a antimicrobianos que sus homólogas que no forman biopelículas. Por lo tanto, hay una necesidad urgente de tratamientos seguros y eficaces para infecciones y contaminación por pseudomonas y, en particular, tratamiento que superen la resistencia a antibióticos, en particular la resistencia a β-lactamas, en especies pseudomonas.

30 Burkholderia es un género de bacterias de forma de varilla, no fermentadoras, aerobias estrictas, móviles, gram negativas. Las especies de burkholderia están ampliamente distribuidas en la naturaleza e incluyen patógenos de animales y plantas. *Burkholderia cepacia* está surgiendo como un patógeno humano importante. Se ha informado que *B. cepacia* ha causado neumonía necrotizante, neumonía asociada a respirador, bacteriemia, e infecciones en la piel, tejido blando, torrente sanguíneo, tracto respiratorio y tracto urinario en pacientes con fibrosis quística y pacientes hospitalizados. *Burkholderia cepacia* es parte de un grupo de al menos 9 especies diferentes que forman el complejo de *Burkholderia cepacia* (BCC), que incluye *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. vietnamiensis*, *B. stabilis*, *B. ambifaria*, *B. dolosa*, *B. anthina* y *B. pyrrocinia*.

40 *Burkholderia pseudomallei*, es el agente causante de la melioidosis, una enfermedad infecciosa extrahospitalaria, potencialmente mortal, endémica del sudeste de Asia, Taiwan y norte de Australia. También se han descrito casos en China, India, América central y del sur, Oriente Medio y varios países de África. Se ha informado de la incidencia de la enfermedad entre militares involucrados en conflictos en estas zonas y se ha observado la propagación de las enfermedades de vuelta al país de origen de estos militares y es una consecuencia del hecho de que las recaídas son comunes y la enfermedad puede permanecer latente durante periodos largos antes de la manifestación clínica.

45 *Burkholderia mallei*, es el agente causante del muermo, una enfermedad infecciosa que afecta principalmente a caballos, mulas y burros, pero se ha descrito en otros animales, p. ej., perros, gatos y cabras, y en particular, puede ocurrir la transmisión a seres humanos. La transmisión del animal al ser humano típicamente se produce por contacto directo con abrasiones de la piel, superficies mucosas nasal y oral, o por inhalación.

50 De modo problemático, las especies de burkholderia patógenas a menudo presentan resistencia a múltiples antibióticos y clases de antibióticos (p. ej., uno o más de los aminoglucósidos, β-lactamas y macrólidos) y se ha observado la persistencia en betadine (un antiséptico tópico usado habitualmente en hospitales). También se ha informado de la resistencia adquirida de determinadas cepas a antibióticos adicionales. Así pues, hay una necesidad urgente de tratamientos seguros y eficaces para las infecciones y contaminación por burkholderia y, en particular, tratamientos que superen la resistencia a antibióticos, en particular la resistencia a β-lactamas y macrólidos en las especies de burkholderia.

55 Providencia es un género de bacilos gram negativos que son responsables de una amplia variedad de infecciones humanas. Las infecciones por providencia normalmente son intrahospitalarias y se encuentran predominantemente en el tracto urinario, a menudo como consecuencia de cateterización. Las infecciones por providencia también están

asociadas con la gastroenteritis y bacteriemia e infecciones superficiales de heridas y quemaduras crónicas. Representan un problema que está surgiendo debido a la prevalencia creciente de cepas con resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos debido a la propagación entre las poblaciones de providencia de beta-lactamasa de espectro extendido (ESBL).

5 Las especies de providencia incluyen *Providencia stuartii*, *Providencia sneebia*, *Providencia rettgeri*, *Providencia rustigianii*, *Providencia heimbachae*, *Providencia burhodogranariae* y *Providencia alcalifaciens*. Las especies de providencia se han encontrado en el suelo, agua y aguas residuales y en múltiples reservorios animales. Los ejemplos de infecciones por providencia en animales incluyen diarrea neonatal en ganado debida a la infección por *P. stuartii* y enteritis causada por infección por *P. alcalifaciens* en perros. *P. rettgeri* se ha aislado en cocodrilos con  
10 meningitis/septicemia y en pollos con enteritis. *P. heimbachae* se ha aislado en heces de pingüinos y en fetos bovinos abortados.

En seres humanos, la especie providencia se ha aislado en la orina, heces y sangre, así como en cultivos de esputo, piel y heridas. *P. stuartii* se aísla con frecuencia en pacientes con catéteres urinarios permanentes y se sabe que persiste en el tracto urinario después de lograr el acceso a la vejiga. *P. stuartii* puede dar lugar a septicemia, y  
15 normalmente esta es secundaria a la infección del tracto urinario. También se ha informado de *P. stuartii* como etiología de la endocarditis infecciosa. Se ha informado que *P. rettgeri* es una causa de infecciones oculares, incluyendo queratitis, conjuntivitis y endoftalmitis. *P. alcalifaciens*, *P. rettgeri* and *P. stuartii* también se han implicado en la gastroenteritis.

Las infecciones por providencia con patrones de resistencia antimicrobiana están aumentando y *P. stuartii* positivo a  
20 ESBL es un problema creciente en pacientes hospitalizados. Así pues, hay una necesidad urgente de tratamientos seguros y eficaces para las infecciones y contaminación por providencia y, en particular, tratamientos que superen la resistencia a antibióticos, en particular la resistencia a  $\beta$ -lactamas en la especie providencia.

Acinetobacter es un género de bacterias que son bacilos gram negativos, no fermentadores, aerobios estrictos. Las especies de acinetobacter están ampliamente distribuidas en la naturaleza y pueden sobrevivir durante periodos de  
25 tiempo largos en superficies húmedas o secas. Se considera que las especies de acinetobacter no son patógenas para sujetos sanos, pero es cada vez más evidente que las especies de acinetobacter persisten en entornos hospitalarios durante un periodo de tiempo largo y pueden ser responsables de infecciones intrahospitalarias en pacientes inmunodeprimidos. *Acinetobacter lwoffii* también se ha asociado con la meningitis. Otras especies que incluyen *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter radioresistens*,  
30 *Acinetobacter tandoii*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Acinetobacter townneri* o *Acinetobacter ursingii* también se han asociado con infección. Es de particular interés la prevalencia de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* en militares de EE.UU. destinados en Oriente Medio, p. ej., Iraq. Es preocupante el hecho de que muchas cepas de acinetobacter parecen ser multirresistentes, haciendo por lo tanto difícil combatir las infecciones y contaminación por acinetobacter. Así pues, hay una necesidad urgente de tratamientos seguros y eficaces para las infecciones y  
35 contaminación por acinetobacter.

Klebsiella es un género de bacterias de forma de varilla, gram negativas, no móviles. Las especies de klebsiella son ubicuas en la naturaleza. En seres humanos pueden colonizar la piel, faringe y tracto gastrointestinal y se pueden considerar como flora normal en muchas partes del colon, el tracto intestinal y el tracto biliar.

Las especies de klebsiella incluyen *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella singaporensis* y *Klebsiella variicola*, aunque *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* son los miembros de este género responsables para la mayoría de las infecciones humanas. Dichas infecciones incluyen neumonía, bacteriemia, tromboflebitis, infección del tracto urinario, colecistitis, diarrea, infección del tracto respiratorio superior, infección de  
40 heridas, osteomielitis y meningitis. El rinoscleroma y ozena son otras dos infecciones causadas por especies de klebsiella. El rinoscleroma es un proceso inflamatorio crónico que implica la nasofaringe, mientras que la ozena es una rinitis atrófica crónica caracterizada por necrosis de la mucosa nasal y descarga nasal mucopurulenta.

Klebsiella a menudo contribuye a las infecciones intrahospitalarias. Los sitios comunes incluyen el tracto urinario, tracto respiratorio inferior, tracto biliar y heridas. La presencia de dispositivos invasivos, en particular equipamiento de apoyo respiratorio y catéteres urinarios, aumenta la probabilidad de infección intrahospitalaria con especies klebsiella. La septicemia y el choque séptico pueden venir después de la entrada de organismos en la sangre desde  
50 estas fuentes.

*K. pneumoniae* es una causa importante de neumonía extrahospitalaria en personas mayores y sujetos con defensas respiratorias del hospedante deterioradas. *K. oxytoca* se ha implicado en bacteriemia neonatal, en especial entre los bebés prematuros y en las unidades de cuidados intensivos neonatales. El organismo se está aislando cada vez más de pacientes con septicemia neonatal.

55 De modo problemático, está aumentando la resistencia de especies de klebsiella a antibióticos. Así pues, hay una necesidad urgente de tratamientos seguros y eficaces para las infecciones y contaminación por klebsiella y, en particular, tratamientos para superar la resistencia a antibióticos en especies klebsiella.

Los antibióticos son una herramienta clave en la gestión clínica de las infecciones bacterianas, p. ej., las que

implican los géneros mencionados antes. Desgraciadamente, el número de antibióticos disponibles para los métodos es finito y han permanecido sin cambiar en gran medida durante muchos años. La resistencia de una bacteria a un antibiótico reduce el número de antibióticos disponibles para tratar la bacteria. Por lo tanto, las bacterias resistentes a múltiples antibióticos son proporcionalmente más difíciles de tratar. El uso continuado de antibióticos selecciona inevitablemente las bacterias MDR y por lo tanto hay una necesidad urgente de técnicas mediante las cuales se puedan superar los fenotipos de MDR. Los autores de la invención han encontrado sorprendentemente que oligómeros de alginato pueden lograr esto. Los alginatos son polímeros lineales de ácido  $\beta$ -D-manurónico (M) y/o su epímero en C5 el ácido  $\alpha$ -L-gulurónico (G) con unión (1-4). La estructura primaria de los alginatos puede variar mucho. Los restos M y G pueden estar organizados como bloques homopolímeros de restos de M o G contiguos, como bloques de restos de M y G que alternan y se pueden encontrar restos de M o G espaciando estas estructuras de bloques. Una molécula de alginato puede comprender algunas o todas estas estructuras y dichas estructuras pueden estar distribuidas de forma no uniforme a lo largo del polímero. En el extremo existe un homopolímero de ácido gulurónico (poliguluronato) o un homopolímero de ácido manurónico (polimanuronato).

Los alginatos se han aislado de algas pardas marinas (p. ej., determinadas especies de *Durvillea*, *Lessonia* y *Laminaria*) y bacterias tales como *Pseudomonas aeruginosa* y *Azotobacter vinelandii*. Otras pseudomonas (p. ej., *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas mendocina*) retienen la capacidad genética de producir alginatos pero en la naturaleza no producen niveles detectables de alginato. Por mutación, se puede inducir a estas pseudomonas no productoras para que produzcan establemente grandes cantidades de alginato.

El alginato se sintetiza como polimanuronato y los restos G se forman por acción de epimerasas (específicamente epimerasas C-5) en los restos M en el polímero. En el caso de los alginatos extraídos de algas, los restos G están organizados predominantemente como bloques G porque las enzimas implicadas en la biosíntesis de alginato en las algas introducen con preferencia el G al lado de otro G, convirtiendo así tramos de restos M en bloques de G. La elucidación de estos sistemas biosintéticos ha permitido la producción de alginatos con estructuras primarias específicas (documento WO 94/09124, Gimmestad, M et al., *Journal of Bacteriology*, 2003, Vol 185(12) 3515-3523 y documento WO 2004/011628).

Los alginatos típicamente se aíslan de fuentes naturales como polímeros grandes de alto peso molecular (p. ej., un peso molecular medio en el intervalo de 300.000 a 500.000 Daltons). Sin embargo, se sabe que dichos polímeros grandes de alginato se puede degradar o romper, p. ej. por hidrólisis química o enzimática para producir estructuras de alginato de peso molecular menor. Los alginatos que se usan industrialmente típicamente tienen un peso molecular medio en el intervalo de 100.000 a 300.000 Daltons (dichos alginatos se considera todavía que son polímeros grandes) aunque se han usado alginatos de un peso molecular medio de aproximadamente 35.000 Daltons en productos farmacéuticos.

Ahora se ha encontrado que se pueden usar oligómeros de alginato para superar la resistencia a antibióticos y hacer que las bacterias que son MDR (resistentes a múltiples clases de antibióticos) sean susceptibles a antibióticos (más específicamente al o a los antibióticos a los que eran resistentes) y por lo tanto el uso de oligómeros de alginato junto con antibióticos constituye un procedimiento muy eficaz para combatir la contaminación y las infecciones causadas por bacterias MDR.

Por consiguiente, en un primer aspecto la invención proporciona un método para superar la resistencia a al menos un antibiótico en una bacteria MDR, comprendiendo dicho método poner en contacto dicha bacteria con un oligómero de alginato junto con (o en conjunto o en combinación con) el antibiótico.

Más en particular, la etapa de poner en contacto comprende poner en contacto la bacteria (más en particular las bacterias) con un oligómero de alginato al mismo o sustancialmente al mismo tiempo, o antes de poner en contacto la bacteria con el antibiótico en una cantidad eficaz para superar la resistencia de las bacterias al antibiótico. En particular, la etapa de poner en contacto la bacteria con el oligómero de alginato puede incluir administrar el oligómero de alginato a un sujeto, y en particular a un sujeto que necesite dicho tratamiento (p. ej., un sujeto infectado con, o que se sospecha que está infectado con, o con riesgo de infección por una bacteria MDR).

Por lo tanto, la invención proporciona un oligómero de alginato para usar junto con (o en combinación o en conjunto con) al menos un antibiótico en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria MDR para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria MDR.

Este aspecto de la invención proporciona también un método para tratar un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria MDR para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria MDR, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz del antibiótico a dicho sujeto junto con una cantidad eficaz de dicho oligómero de alginato.

Por "usar junto" se entiende en particular que se administra una cantidad farmacéuticamente eficaz del oligómero de alginato y una cantidad farmacéuticamente eficaz del antibiótico de una forma que de como resultado que la bacteria (más en particular las bacterias) estén en contacto con un oligómero de alginato al mismo o sustancialmente al mismo tiempo o antes de ponerse en contacto con el antibiótico. Se puede usar cualquier régimen de dosificación clínicamente aceptable para lograr esto. El experto en la técnica podrá tener en cuenta cualesquiera factores

variables (p. ej., las vías de administración, la biodisponibilidad y la farmacocinética del oligómero y el antibiótico que se esté usando, el estado físico del sujeto, la localización de la bacteria, etc.) con el fin de designar un régimen de dosificación adecuado para un sujeto particular. En una realización, se administra una cantidad farmacéuticamente eficaz del oligómero de alginato al mismo tiempo o sustancialmente al mismo tiempo o antes de administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz del antibiótico. En otras realizaciones, el oligómero se administra por separado de y después del antibiótico. El experto en la técnica podrá diseñar su régimen de dosificación para maximizar el efecto del oligómero de alginato y el antibiótico que está usando para superar la resistencia de la bacteria MDR objetivo al antibiótico. También podrá seleccionar combinaciones óptimas de los dos agentes activos dependiendo de la situación clínica particular a la que se enfrenta. “Usar junto” no implica que los respectivos agentes están presentes en la misma formulación o composición, y por consiguiente incluso si se usan o se administra al mismo o sustancialmente al mismo tiempo, el oligómero de alginato y el antibiótico no es necesario que estén, realmente más probablemente no estarán, presentes en la misma composición o formulación, sino que se pueden administrar por separado. Por lo tanto el uso/administración “separada” incluye el uso/administración al mismo o sustancialmente al mismo tiempo, o en tiempos diferentes, p. ej., de forma secuencial, o a diferentes intervalos de tiempo de acuerdo con la dosificación o régimen de uso deseado.

La expresión “infectado con” (o “infectado por”) se usa ampliamente en la presente memoria para indicar que el sujeto puede comprender, o contener, o portar la bacteria en cuestión, es decir, que la bacteria simplemente puede estar presente en o sobre el sujeto, y esto puede incluir cualquier sitio o ubicación en o sobre el cuerpo del sujeto. No es necesario que la infección del sujeto se ponga de manifiesto como una enfermedad clínica (es decir, que la infección produzca síntomas clínicos en el sujeto), aunque por supuesto esto está abarcado. Un sujeto que se sospecha que está infectado o que tiene riesgo de infección puede ser un sujeto que se ha expuesto a la bacteria o a un sujeto infectado, o un sujeto que presenta signos clínicos o síntomas de infección (en el caso de que se sospeche una infección), o un sujeto que es susceptible de infección ya sea en general, p. ej., debido al estado clínico del sujeto, o en particular a la bacteria en cuestión.

Expresado de forma alternativa, la invención proporciona el uso de un oligómero de alginato para la fabricación de un medicamento para usar junto con al menos un antibiótico, en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria MDR para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria MDR.

El medicamento puede comprender además el antibiótico (o antibióticos). El medicamento puede estar en forma de una sola composición o formulación que comprende el oligómero de alginato y el o los antibióticos, o se pueden preparar y usar composiciones o formulaciones separadas, que contiene cada una el oligómero de alginato o el o los antibióticos, respectivamente.

Por lo tanto, en un aspecto más particular, la presente invención proporciona el uso de un oligómero de alginato y al menos un antibiótico para la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria MDR para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria MDR.

Como se ha indicado antes, el antibiótico se puede aplicar o administrar por separado del oligómero de alginato.

Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención proporciona un producto que contiene un oligómero de alginato y un antibiótico (p. ej., uno o más antibióticos) como una preparación combinada para el uso por separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria MDR para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria MDR.

El antibiótico se puede aplicar o administrar de forma simultánea con el oligómero de alginato o secuencialmente. Como se ha indicado antes, en una realización, el antibiótico se administra al mismo o sustancialmente al mismo tiempo que el oligómero de alginato, y en otra realización se administra después del oligómero de alginato. En otras realizaciones, el oligómero se administra por separado de y después del antibiótico. En el alcance de “sustancialmente al mismo tiempo” está la aplicación o administración del antibiótico inmediatamente o casi inmediatamente antes o después del oligómero de alginato. La expresión “casi inmediatamente” se puede leer como que incluye la aplicación o administración en el espacio de 1 hora de la aplicación o administración previa, preferiblemente en el espacio de 30 minutos. Sin embargo, el antibiótico se puede aplicar o administrar al menos 1 h, al menos 3 h o al menos 6 h o más después del oligómero de alginato. En estas realizaciones, el antibiótico se puede aplicar o administrar con o sin una aplicación adicional de un oligómero de alginato. El oligómero de alginato se puede aplicar o administrar en una pluralidad de aplicaciones antes de o con los antibióticos, incluyendo como se ha indicado antes, una aplicación o administración inmediatamente o casi inmediatamente después del antibiótico. En otras realizaciones, el o los antibióticos se pueden aplicar o administrar de forma conveniente antes del oligómero de alginato, p. ej., al menos 1 h, al menos 3 h o al menos 6 h antes del oligómero de alginato. En estas realizaciones, el oligómero de alginato se puede aplicar o administrar con o sin una aplicación adicional del antibiótico. El antibiótico se puede aplicar o administrar en una pluralidad de aplicaciones antes de o con el oligómero de alginato.

Como se ha indicado antes, los alginatos típicamente se encuentran como polímero de peso molecular medio de al

- menos 35.000 Daltons, es decir, de aproximadamente 175 a aproximadamente 190 restos de monómeros, aunque típicamente mucho mayores, y un oligómero de alginato según la presente invención se puede definir como un material obtenido por fraccionamiento (es decir, reducción de tamaño) de un polímero alginato, normalmente un alginato natural. Un oligómero alginato se puede considerar que es un alginato de un peso molecular medio menor de 35.000 Daltons (es decir, menos de aproximadamente 190 o menos de aproximadamente 175 restos de monómeros), en particular un alginato de peso molecular medio de menos de 30.000 Daltons (es decir, menos de aproximadamente 175 o menos de aproximadamente 150 restos de monómeros) más en particular un peso molecular medio menor de 25.000 ó 20.000 Daltons (es decir, menos de aproximadamente 135 ó 125 restos de monómeros o menos de aproximadamente 110 ó 100 restos de monómeros).
- 5
- 10 Visto de forma alternativa, un oligómero en general comprende 2 o más unidades o restos y un oligómero de alginato para usar según la invención típicamente contendrá de 2 a 100 restos de monómero, preferiblemente de 2 a 75, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 2 a 40, de 2 a 35 o de 2 a 30 restos. Por lo tanto, un oligómero de alginato para usar de acuerdo con la invención típicamente tendrá un peso molecular medio de 350 a 20.000 Daltons, preferiblemente de 350 a 15.000 Daltons, preferiblemente de 350 a 10.000 Daltons y más preferiblemente de 350 a 8000 Daltons, de 350 a 7000 Daltons, o de 350 a 6.000 Daltons.
- 15
- De forma alternativa, un oligómero de alginato puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico (DPn) de 2 a 100, preferiblemente de 2 a 75, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 2 a 40, de 2 a 35, de 2 a 30, de 2 a 28, de 2 a 25, de 2 a 22, de 2 a 20, de 2 a 18, de 2 a 17, de 2 a 15 o de 2 a 12.
- 20
- Otros intervalos representativos (sea para el número de restos, el DP o DPn) incluyen de uno cualquiera de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 a uno cualquiera de 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13 ó 12.
- Otros intervalos representativos (sea para el número de restos, el DP o DPn) incluyen de uno cualquiera de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 a uno cualquiera de 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17 ó 16.
- 25
- Otros intervalos representativos (sea para el número de restos, el DP o DPn) incluyen de uno cualquiera de 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ó 18 a uno cualquiera de 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 ó 19.
- 30
- Un oligómero de alginato contendrá (o comprenderá), como se ha indicado antes, restos o unidades de guluronato o ácido gulurónico (G) y/o manuronato o ácido manurónico (M). Un oligómero de alginato según la invención preferiblemente estará compuesto solo, o sustancialmente solo, (es decir, consiste esencialmente en) de restos de uronato/ácido urónico, más en particular solo o sustancialmente solo de restos G y/o M. Expresado de forma alternativa, en el oligómero de alginato en la presente invención, al menos 80%, más en particular al menos 85, 90, 95 ó 99% de los restos de monómeros pueden ser restos de uronato/ácido urónico, o más en particular restos de G y/o M. En otras palabras, preferiblemente el oligómero de alginato comprenderá otros restos o unidades (p. ej., otros restos de sacáridos, o más en particular otros restos de ácido urónico/uronato).
- 35
- El oligómero de alginato preferiblemente es un oligómero lineal.
- Más en particular, en una realización preferida, al menos 30% de los restos de monómero del oligómero de alginato son restos G (es decir, guluronato o ácido gulurónico). En otras palabras, el oligómero de alginato contendrá al menos 30% de restos de guluronato (o ácido gulurónico). Por lo tanto, realizaciones específicas incluyen oligómeros de alginato con (p. ej., que contienen) de 30 a 70% de restos G (guluronato) o de 70 a 100% de restos G (guluronato). Por lo tanto, un oligómero de alginato representativo para usar según la presente invención puede contener al menos 70 5 de restos G (es decir, al menos 70 % de los restos de monómeros del oligómero de alginato serán restos G).
- 40
- 45 Preferiblemente al menos 50% o 60%, más en particular al menos 70% o 75%, incluso más en particular al menos 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99% de los restos de monómeros son guluronato. En una realización, el oligómero de alginato puede ser un oligoguluronato (es decir, un homopolímero de G, o 100% de G).
- En una realización preferida adicional, los alginatos de la invención descritos antes tienen una estructura primaria en la que la mayoría de los restos G están en los llamados bloques G. Preferiblemente, al menos 50%, más preferiblemente al menos 70 o 75%, y lo más preferiblemente al menos 80, 85, 90, 92 o 95% de los restos G están en bloques G. Un bloque G es una secuencia contigua de al menos dos restos G, preferiblemente al menos 3 restos G contiguos, más preferiblemente al menos 4 ó 5 restos G contiguos, lo más preferiblemente al menos 7 restos G contiguos.
- 50
- En particular, al menos 90% de los restos G están unidos 1-4 a otro resto G. Más en particular, al menos 95%, más preferiblemente al menos 98% y los más preferiblemente al menos 99% de los restos G del alginato están unidos 1-4 a otro resto G.
- 55

- El oligómero alginato de uso en la invención preferiblemente es un oligómero de 3 a 35 restos, más preferiblemente de 3 a 28 restos, en particular de 4 a 25 restos, en especial de 6 a 22 restos, en particular de 8 a 20 restos, en especial de 10 a 15 restos, que tiene, p. ej., un peso molecular en el intervalo de 350 a 6400 Daltons o de 350 a 6000 Daltons, preferiblemente de 550 a 5500 Daltons, preferiblemente de 750 a 5000 Daltons, y en especial de 750 a 4500 Daltons o de 2000 a 3000 Daltons. Otros oligómeros de alginato representativos incluyen, como se ha mencionado antes, oligómeros con 7, 8, 9, 10, 11 o de 12 a 50, 45, 40, 35, 28, 25, 22 ó 20 restos.
- Puede ser un solo compuesto o puede ser una mezcla de compuestos, p. ej., de un intervalo de grados de polimerización. Como se ha indicado antes, los restos monómeros en el oligómero de alginato pueden ser iguales o diferentes y no es necesario que lleven todos grupos con carga eléctrica, aunque se prefiere que la mayoría (p. ej., al menos 60%, preferiblemente al menos 80%, más preferiblemente al menos 90%) la lleven. Se prefiere que una mayoría sustancial, p. ej., al menos 80%, más preferiblemente al menos 90% de los grupos cargados tengan la misma polaridad. En el oligómero de alginato, la relación de grupos hidroxilo a grupos cargados preferiblemente es al menos 2:1, más en especial al menos 3:1.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 3-28, 4-25, 6-22, 8- 20 o 10-15, o de 5 a 18 o de 7 a 15 o de 8 a 12, en especial 10.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 8-50, 8-40, 8-35, 8-30, 8-28, 8-25, 8-22, 8-20, 8-18, 8-16 u 8-14.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 9-50, 9-40, 9-35, 9-30, 9-28, 9-25, 9-22, 9-20, 9-18, 9-16 ó 9-14.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 10-50, 10-40, 10-35, 10-30, 10-28, 10-25, 10-22, 10-20, 10-18, 10-16 ó 10-14.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 12-50, 12-40, 12-35, 12-30, 12-28, 12-25, 12-22, 12-20, 12-18, 12-16 ó 12-14.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 15-50, 15-40, 15-35, 15-30, 15-28, 15-25, 15-22, 15-20, 15-18 ó 15-16.
- El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado de polimerización medio numérico ( $DP_n$ ) de 18-50, 18-40, 18-35, 18-30, 18-28, 18-25, 18-22 ó 18-20.
- Preferiblemente, el oligómero de alginato de la invención está sustancialmente exento, preferiblemente esencialmente exento de oligómeros de alginato que tienen un grado de polimerización fuera de los intervalos descritos en la presente memoria. Esto se puede expresar en términos de la distribución de pesos moleculares del oligómero de alginato de la invención, p. ej., el porcentaje de cada mol de oligómero de alginato que se usa según la invención que tiene un DP fuera del intervalo relevante. La distribución de pesos moleculares preferiblemente es tal que como máximo 10%, preferiblemente como máximo 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1% en moles tienen un DP de 3, 2 o 1 mayor que el límite superior relevante de  $DP_n$ . Igualmente, se prefiere que como máximo 10%, preferiblemente como máximo 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 ó 1% en moles tenga un DP inferior a un número 3, 2 ó 1 menor que el límite inferior relevante para el  $DP_n$ .
- Se describen oligómeros de alginato adecuados en los documentos WO2007/039754, WO2007/039760, WO2008/125828 y WO2009/068841, cuyas descripciones están incorporadas explícitamente por referencia en la presente memoria en su totalidad.
- Los oligómeros de alginato adecuados representativos tienen un  $DP_n$  en el intervalo de 5 a 30, una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,80, una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,20, y al menos 95% en moles de DP de como máximo 25.
- Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 7 a 15 (preferiblemente de 8 a 12), una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,85 (preferiblemente al menos 0,90), una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,15 (preferiblemente como máximo 0,10), y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 17 (preferiblemente menor de 14).
- Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 5 a 18 (en especial de 7 a 15), una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,80 (preferiblemente al menos 0,85, en especial al menos 0,92), una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,20 (preferiblemente como máximo 0,15, en especial como máximo 0,08), y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 20 (preferiblemente menor de 17).
- Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,92, una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,80, y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 20.



5 Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 5 a 18 (preferiblemente de 7 a 15, más preferiblemente de 8 a 12, en especial aproximadamente 10), una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,80 (preferiblemente al menos 0,85, más preferiblemente al menos 0,90, en especial al menos 0,92, lo más en especial al menos 0,95), una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,20 (preferiblemente como máximo 0,15, más preferiblemente como máximo 0,10, en especial como máximo 0,08, lo más en especial como máximo 0,05), y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 20 (preferiblemente menor de 17, más preferiblemente menor de 14).

10 Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 7 a 15 (en especial de 8 a 12), una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,92 (preferiblemente al menos 0,95), una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,08 (preferiblemente como máximo 0,05), y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 17 (preferiblemente menor de 14).

Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 5 a 18, una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,80, una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,20, y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 20.

15 Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 7 a 15, una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,85, una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,15, y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 17.

20 Oligómeros de alginato adecuados adicionales tienen un grado de polimerización medio numérico en el intervalo de 7 a 15, una fracción de guluronato/galacturonato ( $F_G$ ) de al menos 0,92, una fracción de manuronato ( $F_M$ ) de como máximo 0,08, y que tiene al menos 95% en moles con un grado de polimerización menor de 17.

25 Por lo tanto, se verá que una clase particular de oligómeros de alginato favorecidos según la presente invención son oligómeros de alginato definidos como los llamados oligómeros de "alto contenido en G" o "bloques G", es decir, que tienen un alto contenido de restos G o bloques G (p. ej., en los que al menos 70% de los restos de monómeros son G, preferiblemente dispuestos en bloques G). Sin embargo, también se pueden usar otros tipos de oligómeros de alginato, incluyen en particular oligómeros de "alto contenido en M" o "bloques M" u oligómeros de bloques MG, como se describe con más detalle más adelante. Por consiguiente, son los oligómeros de alginato con altas proporciones de un solo tipo de monómero, y estando presentes dichos monómeros de este tipo predominantemente en secuencias contiguas de ese tipo de monómero, los que representan oligómeros que son particularmente preferidos, p. ej., oligómeros en los que al menos 70% de los restos de monómero en el oligómero son restos G con unión 1-4 a otro resto G, o más preferiblemente al menos 75%, y lo más preferiblemente al menos 80, 85, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% de los restos de monómeros del oligómero son restos G con unión 1-4 a otro resto G. Esta unión 1-4 de dos restos G se puede expresar alternativamente como una unidad gulurónica unida a una unidad gulurónica adyacente.

35 En una realización adicional, al menos, o más en particular más de, 50% de los restos de monómeros del oligómero de alginato pueden ser restos M (es decir, manuronato o ácido manurónico). En otras palabras, el oligómero de alginato contendrá al menos o alternativamente más de 50% de restos de manuronato (o ácido manurónico). Por lo tanto, realizaciones específicas incluyen oligómeros de alginato con (p. ej., que contienen) de 50 a 70% de restos M (manuronato) o p. ej. de 70 a 100% de restos M (manuronato). Realizaciones específicas adicionales también incluyen oligómeros que contienen de 71 a 85% de restos M, o de 85 a 100% de restos M. Por lo tanto, un oligómero de alginato representativo para usar de acuerdo con esta realización de la presente invención contendrá más de 70% de restos M (es decir, más de 70% de los restos de monómeros del oligómero de alginato serán restos M).

En otras realizaciones al menos 50% o 60%, más en particular al menos 70% o 75%, incluso más en particular al menos 80, 85, 90, 95 o 99% de los restos de monómero son manuronato. En una realización, el oligómero de alginato puede ser un oligomanuronato (es decir, un homooligómero de M, o 100% de M).

45 En una realización adicional, los alginatos de la invención descritos antes tienen una estructura primaria en la que la mayoría de los restos M están en los llamados bloques M. En esta realización, preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 70 o 75%, y lo más preferiblemente al menos 80, 85, 90 o 95% de los restos M están en bloques M. Un bloque M es una secuencia contigua de al menos dos restos M, preferiblemente al menos 3 restos M contiguos, más preferiblemente al menos 4 ó 5 restos M contiguos, lo más preferiblemente al menos 7 restos M contiguos.

En particular, al menos 90% de los restos M están unidos 1-4 a otro resto M. Más en particular, al menos 95%, más preferiblemente al menos 98%, y lo más preferiblemente al menos 99% de los restos M del alginato están unidos 1-4 a otro resto M.

55 Otros oligómeros preferidos son oligómeros de alginato en los que al menos 70% de los restos de monómeros en el oligómero son restos M con unión 1-4 a otro resto M, o más preferiblemente al menos 75%, y los más preferiblemente al menos 80, 85, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% de los restos de monómeros del oligómero son restos M con unión 1-4 a otro resto M. Esta unión 1-4 de dos restos M se puede expresar alternativamente como una unidad manurónica unida a dos unidades manurónicas adyacentes.

- En otra realización adicional más, los oligómeros de alginato de la invención comprenden una secuencia de restos M y G que alternan. Una secuencia de al menos 3, preferiblemente al menos 4, restos M y G que alternan representan un bloque MG. Expresado de forma más específica, un bloque MG es una secuencia de al menos 3 restos contiguos que consisten en restos G y M y en los que cada restos G no terminal (interno) en la secuencia contigua está unido 1-4 y 4-1 a un resto M, y cada resto M no terminal (interno) en la secuencia contigua está unido 1-4 y 4-1 a un resto G. Preferiblemente el bloque MG tiene al menos 5 ó 6 restos contiguos, preferiblemente al menos 7 u 8 restos contiguos.
- En una realización adicional, el uronato minoritario en el oligómero de alginato (es decir, manuronato o guluronato) se encuentra predominantemente en los bloques MG. En esta realización, preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 70 o 75% y los más preferiblemente al menos 80, 85, 90 o 95% de los monómeros de uronato minoritarios en el oligómero de alginato de bloques MG están presentes en los bloques MG. En otra realización, el oligómero de alginato está dispuesto de modo que al menos al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 99%, p. ej. 100% de los restos G y M en el oligómero están dispuestos en bloques MG.
- Aunque en su sentido más amplio, la invención se extiende a realizaciones en las que al menos 1% pero menos de 100% de los restos de monómeros del oligómero son restos G (es decir, guluronato o ácido gulurónico), más en particular, y como se define con más detalle más adelante, al menos 30% de los restos de monómeros son restos G. Por lo tanto, en su sentido más amplio, el oligómero de alginato que contiene bloques MG puede contener al menos 1%, pero menos de 100%, de restos de guluronato (o ácido gulurónico), pero en general el oligómero de alginato que contiene bloques MG contendrá al menos 30% (o al menos 35, 40 o 50% de G) pero menos de 100% de G. Por lo tanto, realizaciones específicas incluyen oligómeros de alginato que contiene bloques MG con (p. ej., que contienen) de 1 a 30% de restos G (guluronato), de 30 a 70% de restos G (guluronato) o de 70 a 99% de restos G (guluronato). Por lo tanto, un oligómero de alginato que contiene bloques MG representativo para usar de acuerdo con la presente invención puede contener más de 30%, pero menos de 70%, de restos G (es decir, más de 30%, pero menos de 70%, de los restos de monómeros del oligómero de alginato de bloques MG serán restos G).
- Preferiblemente más de 30%, más en particular más de 35% o 40%, incluso más en particular más de 45, 50, 55, 60 o 65%, pero en cada caso menos de 70%, de los restos de monómeros del oligómero de alginato que contiene bloques MG son guluronato. Alternativamente, menos de 70%, más preferiblemente menos de 65% o 60%, incluso más preferiblemente menos de 55, 50, 45, 40 o 35%, pero en cada caso más de 30% de los restos de monómeros del oligómero de alginato que contiene bloques MG son guluronato. Se puede elegir cualquier intervalo formado por cualquier combinación de estos valores. Por lo tanto, por ejemplo, el oligómero de alginato que contiene bloques MG puede tener, p. ej., entre 35% y 65%, 40% y 60% o 45% y 55% de restos G.
- En otra realización, el oligómero de alginato que contiene bloques MG puede tener cantidades aproximadamente iguales de restos G y M (p. ej., relaciones entre 65% G/35% M y 35% G/65% M, por ejemplo 60% G/40% M y 40% G/60% M; 55% G/45% M y 45% G/55% M; 53% G/47% M y 47% G/53% M; 51% G/49% M y 49% G/51% M; p. ej., aproximadamente 50% de G y aproximadamente 50% de M) y estos restos están dispuestos predominantemente, preferiblemente enteramente o de forma tan completa como sea posible, en un patrón MG que alterna (p. ej. al menos 50% o al menos 60, 70, 80, 85, 90 o 95% o 100% de los restos M y G están en una secuencia MG que alterna).
- En determinadas realizaciones, los restos de ácido urónico terminales de los oligómeros de la invención, no tienen un doble enlace, en especial un doble enlace situado entre los átomos C<sub>4</sub> y C<sub>5</sub>. Dichos oligómeros se pueden describir como que tienen restos de ácido urónico terminales saturados. El experto en la técnica podrá preparar oligómeros con restos de ácido urónico terminales saturados sin demasiado trabajo. Esto puede ser mediante el uso de técnicas de producción que dan dichos oligómeros, o convirtiendo (saturando) oligómeros producidos por procedimientos que dan oligómeros con restos de ácido urónico terminales insaturados.
- El oligómero alginato típicamente llevará una carga y por lo tanto los contraiones para el oligómero alginato pueden ser cualquier ion fisiológicamente tolerable, en especial aquellos usados habitualmente en fármacos cargados, p. ej., sodio, potasio, amonio, cloruro, mesilato, meglumina, etc. También se pueden usar iones que promueven la gelación del alginato, p. ej. iones de metales del grupo 2.
- Aunque el oligómero de alginato puede ser un material sintético generado a partir de la polimerización de números adecuados de restos de guluronato y manuronato, los oligómeros de alginato de uso en la invención se pueden obtener de forma convencional, producir o derivar a partir de fuentes naturales tales como las mencionadas antes, en concreto materiales de fuente de alginato natural.
- La escisión de polisacárido a oligosacárido para producir el oligómero de alginato que se puede usar según la presente invención, se puede llevar a cabo usando técnicas de lisis de polisacáridos convencionales tales como digestión enzimática e hidrólisis ácida. En una realización favorecida, se usa la hidrólisis ácida para preparar los oligómeros de alginato en la invención. En otras realizaciones, se usa la digestión enzimática con una etapa o etapas de procesamiento adicionales para saturar los ácidos urónicos terminales en los oligómeros.

Después, los oligómeros se pueden separar de los productos de rotura de polisacáridos por cromatografía usando una resina de intercambio iónico o por precipitación fraccionada o solubilización o filtración. Los documentos US 6.121.441 y WO 2008/125828 que se incorporan explícitamente por referencia en la presente memoria en su totalidad, describen un procedimiento adecuado para preparar oligómeros de alginato de uso en la invención. Se puede encontrar más información y discusión, por ejemplo, en "Handbooks of Hydrocolloids", Ed. Phillips and Williams, CRC, Boca Raton, Florida, USA, 2000, cuyo libro de texto se incorpora explícitamente por referencia en la presente memoria en su totalidad.

Los oligómeros de alginato también se pueden modificar químicamente, incluyendo, pero sin limitar, la modificación para añadir grupos cargados (tales como glicanos carboxilados o carboximetilados) y oligómeros de alginato modificados para alterar la flexibilidad (p. ej., oxidación por peryodato).

Los oligómeros de alginato (por ejemplo ácido oligogulurónico) adecuados para usar de acuerdo con la invención se pueden producir de forma convencional por hidrólisis ácida de ácido algínico a partir de, pero sin limitar, *Laminaria hyperbora* y *Lessonia nigrescens*, disolución a pH neutro, adición de ácido mineral para reducir el pH a 3,4 para precipitar el oligómero de alginato (ácido oligogulurónico), lavado con ácido débil, resuspensión a pH neutro y liofilización.

Los alginatos para producir oligómeros de alginato de la invención también se pueden obtener directamente a partir de fuentes bacterianas adecuadas, p. ej., *Pseudomonas aeruginosa* o *Azotobacter vinelandii*.

En realizaciones en las que se requieren oligómeros de alginato que tienen estructuras primarias en las que la mayoría de los restos G están dispuestos en bloques G en lugar de como restos individuales, se espera que las fuentes de algas sean más adecuadas teniendo en cuenta el hecho de que los alginatos producidos en estos organismos tienden a tener estas estructuras. Las fuentes bacterianas pueden ser más adecuadas para obtener oligómeros de alginato de diferentes estructuras.

El aparato molecular implicado en la biosíntesis de alginato en *Pseudomonas fluorescens* y *Azotobacter vinelandii* se ha clonado y caracterizado (documento WO 94/09124; Ertesvag, H., et al., *Metabolic Engineering*, 1999, Vol 1, 262-269; WO 2004/011628; Gimmestad, M., et al. (véase antes); Remminghorst and Rehm, *Biotechnology Letters*, 2006, Vol 28, 1701-1712; Gimmestad, M. et al., *Journal of Bacteriology*, 2006, Vol 188(15), 5551-5560) y se pueden obtener fácilmente alginatos de estructuras primarias hechas a medida manipulando estos sistemas.

El contenido de G de los alginatos (por ejemplo, en material de fuentes de algas) se puede aumentar por epimerización, por ejemplo con manuronano C-5 epimerasas a partir de *A. vinelandii* u otras enzimas epimerasas. Por lo tanto, por ejemplo la epimerización in vitro se puede llevar a cabo con epimerasas aisladas de *Pseudomonas* o *Azotobacter*, p. ej. AlgG de *Pseudomonas fluorescens* o *Azotobacter vinelandii* o las enzimas AlgE (AlgE1 a AlgE7) de *Azotobacter vinelandii*. El uso de epimerasas de otros organismos que tienen la capacidad de producir alginato, en particular las algas, también está específicamente contemplado. La epimerización in vitro de alginatos G con epimerasas AlgE de *Azotobacter vinelandii* se describe con detalle en Ertesvag y col. (véase antes) y Strugala et al. (*Gums and Stabilisers for the Food Industry*, 2004, 12, The Royal Society of Chemistry, 84 - 94).

Para obtener alginatos u oligómeros de alginato que contienen bloques G, se prefiere la epimerización con una o más epimerasas AlgE de *Azotobacter vinelandii* distintas de la AlgE<sub>4</sub> ya que estas enzimas son capaces de producir estructuras de bloques G. Por otra parte, la epimerasa AlgE<sub>4</sub> se puede usar para crear alginatos u oligómeros de alginato con tramos de secuencia M/G que alternan o estructuras primarias que contienen restos G individuales, ya que se ha encontrado que esta enzima parece que epimeriza con preferencia los restos M individuales para así producir restos G individuales unidos a restos M en lugar de producir bloques G. Se pueden obtener estructuras primarias particulares usando diferentes combinaciones de estas enzimas.

Las versiones mutadas de estas enzimas u homólogas de otros organismos también se contemplan específicamente para el uso. El documento WO 94/09124 describe enzimas manuronano C-5 epimerasas (enzimas AlgE) recombinantes o modificadas, por ejemplo, codificadas por secuencias de epimerasa en las que las secuencias de ADN que codifican los diferentes dominios o módulos de las epimerasas se han desordenado o eliminado u recombinado. Alternativamente, se pueden usar mutantes de enzimas epimerasa naturales (AlgG p AlgE), obtenidas por ejemplo por mutagénesis dirigida o al azar de los genes de AlgG o AlgE.

Un procedimiento diferente es crear organismos *Pseudomonas* y *Azotobacter* que han mutado algunos o todos sus genes de epimerasa de una forma que esos mutantes producen alginatos de la estructura requerida para la posterior producción de oligómero de alginato, o incluso oligómeros de alginato de la estructura y tamaño (o peso molecular) requeridos. La generación de una serie de organismos *Pseudomonas fluorescens* con genes de AlgG mutados se describe con detalle en el documento WO 2004/011628 y Gimmestad, M., et al., 2003 (véase antes). La generación de una serie de organismos *Azotobacter vinelandii* con genes de AlgE mutados se describen en Gimmestad, M., y al., 2006 (véase antes). El experto en la técnica podrá usar esta enseñanza para producir mutantes nuevos que se puedan usar para dar lugar a oligómeros de alginato de la invención sin un trabajo excesivo.

Un procedimiento adicional es eliminar o inactivar los genes de epimerasa endógenos de un organismo *Azotobacter* o *Pseudomonas* y después introducir uno o más genes de epimerasa exógenos, que pueden estar o no mutados (es

decir, pueden ser mutados o modificados) y cuya expresión se puede controlar, por ejemplo, mediante el uso de promotores inducibles u otros “promotores controlables”. Seleccionando las combinaciones de genes adecuadas, se pueden producir alginatos de estructura primaria predeterminada.

5 Un procedimiento adicional sería introducir parte o toda la maquinaria de biosíntesis de alginato de *Pseudomonas* y/o *Azotobacter* en un organismo no productor de alginato (p. ej. *E. coli*) e inducir la producción del alginato a partir de estos organismos genéticamente modificados.

10 Cuando se usan estos sistemas basados en cultivo, en la estructura primaria de los productos de alginatos u oligómeros de alginato pueden incluir las condiciones de cultivo. Depende de la capacidad del experto en la técnica ajustar los parámetros del cultivo tales como la temperatura, osmolaridad, niveles/fuentes de nutrientes y parámetros atmosféricos, con el fin de manipular la estructura primaria de los alginatos producidos por un organismo particular.

15 Las referencias a “restos G/G” y “restos M/M” o a ácido gulurónico o ácido manurónico, o guluronato o manuronato deben leerse de forma intercambiable como referencias a ácido gulurónico/guluronato y ácido manurónico/manuronato (específicamente ácido  $\alpha$ -L-gulurónico/guluronato y ácido  $\beta$ -D-manurónico/manuronato), e incluyen además derivados de los mismos en los que una o más cadenas laterales o grupos disponibles se han modificado sin dar como resultado una capacidad para superar la resistencia a antibióticos que sea sustancialmente menor que la del oligómero no modificado. Los grupos modificados de sacáridos comunes incluirían grupos acetilo, sulfato, amino, desoxi, alcohol, aldehído, cetona, éster y anhidro. Los oligómeros de alginato también se pueden modificar químicamente para añadir grupos cargados (tal como glicanos carboxilados o carboximetilados), y para alterar la flexibilidad (p. ej., por oxidación con peryodato). El experto en la técnica será consciente de otras modificaciones químicas adicionales más que se pueden hacer a las subunidades de monosacáridos de los oligosacáridos, y estas se pueden aplicar a los oligómeros de alginato de la invención.

20 La bacteria a la que se dirige el método de la invención puede ser cualquier bacteria que sea MDR, que según la presente invención significa que la bacteria es resistente a al menos 3, o al menos 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 clases de antibióticos. Como se ha indicado antes, los antibióticos de diferentes clases son estructural y/o funcionalmente diferentes. En otras realizaciones, la bacteria a la que se dirige el método de la invención puede ser cualquier bacteria que tenga una resistencia a fármacos extrema, que según la presente invención significa que la bacteria es resistente a la mayoría de, o a todos, los antibióticos. En particular, las bacterias con resistencia a fármacos extrema son resistentes a al menos un antibiótico de último recurso (p. ej., vancomicina, linezolid, etc.). El experto en la técnica será consciente de ejemplos de antibióticos de último recurso.

30 Las clases de antibióticos y los constituyentes representativos de las mismas incluyen, pero sin limitar los aminoglucósidos (p. ej., amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina); los carbacefémicos (p. ej. loracarbef); las cefalosporinas primera generación (p. ej., cefadroxil, cefazolina, cefalexina); cefalosporinas de segunda generación (p. ej., cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima); cefalosporinas de tercera generación (p. ej., cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona); cefalosporinas de cuarta generación (p. ej., cefepima); los macrólidos (p. ej., azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, troleandomicina); los monobactámicos (p. ej. aztreonam); las penicilinas (p. ej., amoxicilina, ampicilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina, ticarcilina); los antibióticos polipéptidos (p. ej. bacitracina, colistina, polimixina B); las quinolonas (p. ej., ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina); las sulfonamidas (p. ej. mafenida, sulfacetamida, sulfametizol, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol); las tetraciclinas (p. ej., demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina); las glicilicilinas (p. ej., la tigeciclina); los carbapenémicos (p. ej. imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601), otros antibióticos incluyen cloranfenicol; clindamicina; etambutol; fosfomicina; isoniazida; linezolid; metronidazol; nitrofurantoína; pirazinamida; quinupristina/dalfopristina; rifampina; espectinomina; y vancomicina.

45 En realizaciones preferidas de la invención, las bacterias MDR son resistentes a tres o más clases de antibióticos seleccionadas de los macrólidos, las  $\beta$ -lactamas (que pueden incluir los carbapenémicos y/o monobactámicos y/o carbacefémicos), las tetraciclinas, los antibióticos polipéptidos y las quinolonas. En otras realizaciones, las clases pueden incluir los aminoglucósidos. En otras realizaciones más, las clases pueden incluir los macrólidos,  $\beta$ -lactamas y las quinolonas. Se observará que la invención puede dar como resultado la superación de la resistencia a una o más clases a las que es resistente la bacteria MDR, pero no implica necesariamente que se supere la resistencia a todas las clases de antibióticos a las que puede ser resistente una bacteria MDR. Así, por ejemplo, se puede superar la resistencia a un macrólido y/o una  $\beta$ -lactama y/o una quinolona en una cepa MDR que también es resistente a otros antibióticos, p. ej., aminoglucósidos.

55 Más específicamente, en estas realizaciones las clases de antibióticos se pueden seleccionar de los macrólidos, los monobactámicos, los carbapenémicos, los carbacefémicos, las cefalosporinas de 3ª y 4ª generación, las tetraciclinas, los antibióticos polipéptidos y las quinolonas. En realizaciones representativas más particulares, las bacterias pueden ser resistentes a tres o más clases de antibióticos seleccionadas de macrólidos,  $\beta$ -lactamas y quinolonas, p. ej., tres o más clases de antibióticos seleccionadas de macrólidos, monobactámicos, carbapenémicos, carbacefémicos, cefalosporinas de 3ª y 4ª generación y quinolonas. En otras realizaciones, las

60

clases de antibióticos listadas antes también pueden incluir aminoglucósidos. Por ejemplo, los antibióticos se pueden seleccionar de amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, tilosina, troleandomicina, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y/o trovafloxacina. En particular, las bacterias MDR pueden ser resistentes a uno o más antibióticos seleccionados de amikacina, tobramicina, ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, oxitetraciclina, colistina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina, y se prefiere en particular que las bacterias MDR sean resistentes a uno o más antibióticos seleccionados de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina. Más preferiblemente, las bacterias MDR son resistentes a uno o más antibióticos seleccionados de aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina.

En otras realizaciones, las bacterias MDR son al menos resistentes a una clase de antibiótico seleccionada de las  $\beta$ -lactamas (p. ej., las cefalosporinas de 1ª y 2ª generación y/o monobactámicos) y los macrólidos. Dichas bacterias también pueden ser resistentes a aminoglucósidos y/o quinolonas (p. ej., fluoroquinolonas). En otras realizaciones, las bacterias MDR son al menos resistentes a un antibiótico seleccionado de amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, cefadroxil, cefazolina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, troleandomicina y tilosina, o cualquier combinación de los mismos; por ejemplo amikacina, tobramicina, gentamicina y netilmicina, o cualquier combinación de los mismos.

En una realización particular, los oligómeros de alginato se pueden usar según la presente invención para superar la resistencia a la azitromicina y/o ciprofloxacina, o más en general a las clases de antibióticos a las que pertenecen, en concreto macrólidos (p. ej., azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, troleandomicina, tilosina) y quinolonas (p. ej., ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina).

Como se muestra en los siguientes ejemplos, se ha encontrado que los oligómeros de alginato son particularmente eficaces en potenciar los efectos de estas clases de antibióticos (en concreto los macrólidos y/o quinolonas). Además, los oligómeros de alginato son particularmente eficaces en potenciar los efectos de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, y también pueden potenciar los efectos de otros antibióticos. En los casos de las tres clases de antibióticos mencionadas antes, en concreto los macrólidos, quinolonas y/o  $\beta$ -lactamas, se puede ver que los oligómeros de alginato tienen un efecto sinérgico con los antibióticos. Más en particular, el efecto de potenciación de los oligómeros de alginato también se puede ver con bacterias que no son MDR. Por consiguiente, visto de forma más amplia, se puede ver que la invención se refiere al uso de oligómeros de alginato junto (o en combinación) con un antibiótico macrólido, quinolona y/o  $\beta$ -lactámico, p. ej. para combatir, más en particular para tratar o combatir la infección y/o contaminación bacteriana (es decir, colonización), o alternativamente por ejemplo, para potenciar el efecto del antibiótico. Esto se discute con más detalle más adelante.

En el contexto de los aspectos de la "MDR" de la presente invención, los oligómeros de alginato de la invención se pueden usar para superar la resistencia en bacterias MDR a uno o más de cualquiera de los antibióticos mencionados antes, y por lo tanto, los métodos de la invención abarcan el uso de los oligómeros de alginato de la invención junto con un antibiótico al que es resistente una bacteria MDR para combatir esa bacteria MDR. En realizaciones preferidas de los métodos de la invención, el antibiótico usado es un antibiótico seleccionado de los macrólidos, las  $\beta$ -lactamas, las tetraciclinas y las quinolonas. En una realización adicional se pueden incluir los antibióticos polipéptidos y/o los aminoglucósidos. En realizaciones alternativas, el antibiótico no incluye un aminoglucósido y/o un antibiótico polipéptido (p. ej., colistina). Más específicamente, en las realizaciones expuestas antes, el antibiótico se puede seleccionar de los macrólidos, los monobactámicos, los carbapenémicos, los carbacefémicos, las cefalosporinas de 3ª y 4ª generación, las tetraciclinas y las quinolonas. En realizaciones representativas más particulares, el antibiótico se puede seleccionar de macrólidos,  $\beta$ -lactamas, tetraciclinas y quinolonas, p. ej., macrólidos, monobactámicos, carbapenémicos, carbacefémicos, cefalosporinas de 3ª y 4ª generación, tetraciclinas y quinolonas. En realizaciones representativas más particulares, el antibiótico se puede seleccionar de macrólidos,  $\beta$ -lactamas y quinolonas, p. ej., macrólidos, monobactámicos, carbapenémicos, carbacefémicos, cefalosporinas de 3ª y 4ª generación y quinolonas. Por ejemplo, el antibiótico se puede seleccionar de amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, tilosina, troleandomicina, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y/o trovafloxacina. En particular, el antibiótico se

puede seleccionar de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, oxitetraciclina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina, y se prefiere en particular que el antibiótico se seleccione de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina. Más preferiblemente, el antibiótico se selecciona de aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina. En otras realizaciones, el antibiótico usado es tobramicina, amikacina y/o colistina. En otras realizaciones, el antibiótico usado no es un antibiótico que tenga una carga positiva en las condiciones en las que se usará con el oligómero de alginato, p. ej., antibióticos con al menos 3, p. ej., 4, 5, 6 ó 7 grupos amino (-NH<sub>2</sub>).

Como se ha indicado antes, en términos más generales, los oligómeros de alginato de la invención son eficaces en potenciar los efectos de antibióticos, p. ej., de cualquiera de los descritos antes. Los oligómeros de alginato de la invención se pueden usar, por lo tanto, para aumentar (o mejorar) la eficacia de los antibióticos en general. Se han observado efectos particularmente buenos con macrólidos,  $\beta$ -lactamas, tetraciclinas y quinolonas, p. ej., macrólidos, monobactámicos, carbapenémicos, cefalosporinas de 3<sup>a</sup> y 4<sup>a</sup> generación, tetraciclinas y quinolonas; y en particular ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, oxitetraciclina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina. Por lo tanto, los oligómeros de alginato de la invención se pueden usar para aumentar (o mejorar) la eficacia de los antibióticos descritos en la presente memoria, o más en particular los subgrupos especificados de los mismos, en particular en la inhibición del crecimiento de bacterias, en especial bacterias MDR. Por ejemplo, en consecuencia se puede reducir la dosis de antibiótico que se usa junto con los oligómeros de alginato de la invención.

Con respecto a la azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina y espiramicina (o más en general los macrólidos como una clase de antibióticos) como se ha indicado antes, los datos presentados en los ejemplos muestran más en general que los oligómeros de alginato pueden potenciar los efectos de estos antibióticos (y esta clase) frente a una variedad de bacterias diferentes. Por lo tanto, los oligómeros de alginato se pueden usar para aumentar (o mejorar) la eficacia de estos antibióticos (o más en general, la clase de antibióticos de macrólidos), por ejemplo para permitir usar una dosis menor del antibiótico.

Por lo tanto, en otro aspecto la invención proporciona un método para mejorar la eficacia de un antibiótico macrólido, y en particular la eficacia de un antibiótico macrólido para inhibir el crecimiento y/o la viabilidad de bacterias (que incluye la inhibición del crecimiento de una población bacteriana, así como el crecimiento de una bacteria), comprendiendo dicho método usar dicho antibiótico junto con (en conjunto o combinación con) un oligómero de alginato (que puede ser cualquier oligómero de alginato como se define en la presente memoria). Más en particular, la etapa de uso puede comprender poner en contacto las bacterias con el oligómero de alginato al mismo o sustancialmente al mismo tiempo o antes de poner en contacto la bacteria con el antibiótico macrólido. En particular, y de acuerdo con las descripciones hechas en la presente memoria (y específicamente las definiciones proporcionadas en la presente memoria), que pueden leerse como que se aplican a todos los aspectos de la presente invención, la etapa de poner en contacto la bacteria con el oligómero de alginato puede incluir administrar el oligómero de alginato a un sujeto. De forma conveniente, el antibiótico macrólido se aplica o administra simultáneamente con el oligómero o casi inmediatamente antes o después del oligómero. Sin embargo, el antibiótico macrólido se puede aplicar o administrar al menos 1 h, al menos 3 h al menos 6 h después del oligómero. En estas realizaciones, el antibiótico macrólido se puede aplicar o administrar con o sin una aplicación adicional de un oligómero de alginato. El oligómero se puede aplicar o administrar en una pluralidad de aplicaciones antes de o con el antibiótico macrólido. Otros regímenes de dosificación (p. ej., donde el antibiótico se administra antes del oligómero) se han descrito antes con más detalle y se aplican, cambiando lo que se deba cambiar, a este aspecto de la invención.

El antibiótico macrólido se puede seleccionar del grupo de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, troleandomicina, tilosina. Preferiblemente, el antibiótico macrólido es un macrólido azalida, preferiblemente azitromicina. La bacteria puede ser de cualquier familia, género o especie de bacteria (p. ej., puede ser cualquiera de las bacterias discutidas y preferidas antes). Preferiblemente, es una bacteria MDR como se ha definido antes. Preferiblemente, se selecciona del grupo de pseudomonas (p. ej., *Pseudomonas aeruginosa*), estafilococos (p. ej., *Staphylococcus aureus*), estreptococos (p. ej., *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*), hemófilas (p. ej., *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*), Moraxella (p. ej., *Moraxella catarrhalis*), Neisseria (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae*), clamidias (p. ej., *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*), micoplasmas (p. ej., *Mycoplasma pneumoniae*), Helicobacter (p. ej., *Helicobacter pylori*), Salmonella (p. ej., *Salmonella typhi*) Burkholderia (p. ej., *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*), Acinetobacter (p. ej., *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii*), Providencia (p. ej., *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens*), y Klebsiella (p. ej., *Klebsiella oxytoca*).

La ubicación de la bacteria o población no está restringida (p. ej., puede ser cualquier de las ubicaciones preferidas y discutidas más adelante). En una realización, la bacteria o población no estará en una biopelícula. En una realización, la bacteria o población estará en una biopelícula. Por lo tanto, el método puede ser un método in vitro o in vivo. En el último caso, el método se puede ver como un método para el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto (p. ej., aquellas infecciones bacterianas y sujetos preferidos y descritos anteriormente o en cualquier otra parte en la presente memoria), comprendiendo dicho método administrar a un sujeto una cantidad

farmacéuticamente eficaz de un oligómero de alginato sustancialmente al mismo tiempo o antes de administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de un antibiótico macrólido.

5 Por lo tanto, la invención proporciona un oligómero de alginato para usar junto con (o en combinación o en conjunto con) un antibiótico macrólido para el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto. "Usar junto" es como se ha definido antes.

Expresado de forma alternativa, la invención proporciona el uso de un oligómero de alginato para la fabricación de un medicamento para usar junto con un antibiótico macrólido en el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto. El medicamento puede comprender además el antibiótico macrólido.

10 El medicamento puede estar en forma de una sola composición o formulación que comprende el oligómero de alginato y el o los antibióticos macrólidos, o se pueden preparar y usar composiciones o formulaciones separadas, que contiene cada una el oligómero de alginato o el o los antibióticos macrólidos, respectivamente.

Por lo tanto, en un aspecto más particular, la presente invención proporciona el uso de un oligómero de alginato y al menos un antibiótico macrólido para la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto.

15 Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención proporciona un producto que contiene un oligómero de alginato y un antibiótico macrólido (o uno o más antibióticos macrólidos) como una preparación combinada para el uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento de una infección bacteriana en un sujeto.

Como se ha indicado antes, en estos aspectos de la invención, el oligómero de alginato puede mejorar la eficacia del antibiótico, y en particular la eficacia del antibiótico en la inhibición del crecimiento bacteriano.

20 Mejorar la eficacia del antibiótico incluye cualquier aspecto de mejora o potenciación del efecto del antibiótico, p. ej., de modo que se aumente o potencie el efecto antibacteriano del antibiótico de cualquier forma por encima del efecto del antibiótico visto en ausencia del oligómero de alginato. Esto puede verse, por ejemplo, en un efecto más fuerte del antibiótico en la inhibición del crecimiento de las bacterias, que requiere menos antibiótico para lograr el mismo efecto visto en ausencia de oligómero de alginato, o una mayor eficacia vista como mayor velocidad o tasa de acción, viendo un efecto inhibidor en menos tiempo que en ausencia de oligómero.

25 Las referencias a "mejorar la eficacia de un antibiótico macrólido para inhibir el crecimiento y/o viabilidad de bacterias" etc. puede incluir, en consecuencia, que el oligómero de alginato hace al antibiótico macrólido al menos 2 veces, o al menos 4 veces, al menos 8 veces, al menos 16 veces o al menos 32 veces más eficaz en la inhibición del crecimiento bacteriano (p. ej., actuando como un agente bacteriostático). Expresado de otra forma, el oligómero puede tener al menos el doble, al menos el cuádruple, al menos el óctuple, al menos 16 veces más o al menos 32 veces más eficacia que el antibiótico macrólido para inhibir el crecimiento de las bacterias. El efecto inhibidor del antibiótico macrólido se puede medir evaluando la concentración mínima inhibidora (CMI), es decir la concentración del antibiótico macrólido que inhibe completamente el crecimiento de las bacterias. La mitad de la CMI corresponde al doble en el efecto inhibidor del antibiótico macrólido. Una cuarta parte de la CMI corresponde al cuádruple del efecto inhibidor.

30 Este aspecto también permite reducir la concentración del antibiótico macrólido administrada a un sujeto o aplicada en un sitio, mientras que se mantiene la misma eficacia. Esto puede ser beneficioso si el antibiótico macrólido es caro o está asociado con efectos secundarios. Minimizar el uso de antibióticos también es deseable para minimizar el desarrollo de la resistencia. Según la invención, el uso de un oligómero de alginato como se ha descrito antes, es decir, al mismo o sustancialmente al mismo tiempo o antes de administrar el antibiótico macrólido, permite usar el antibiótico en una concentración que es menos de 50%, menos de 25%, menos de 10% o menos de 5% de la cantidad administrada/aplicada normalmente para lograr un nivel particular de inhibición del crecimiento de bacterias en ausencia del oligómero de alginato.

45 En este aspecto, los oligómeros de alginato pueden ser cualquiera de los discutidos y en particular los expuestos anteriormente como preferidos y los oligómeros de alginato se aplicarán a las bacterias y/o su ubicación con una concentración local de al menos 2%, al menos 4%, al menos 6%, al menos 8% o al menos 10% en peso por volumen.

50 Los oligómeros de alginato pueden potenciar igualmente los efectos de la ciprofloxacina (y las quinolonas como una clase de antibióticos) y el aztreonam (y las  $\beta$ -lactamas, p. ej., los monobactámicos como una clase de antibióticos), y por lo tanto se pueden usar para aumentar (o mejorar) la eficacia de estos antibióticos (o más en general las clases de antibióticos de quinolonas y  $\beta$ -lactamas, p. ej., los monobactámicos), por ejemplo para permitir usar una dosis menor de estos antibióticos. Por consiguiente, los oligómeros de alginato se pueden usar de forma análoga a como se ha descrito antes para los antibióticos macrólidos, para aumentar la eficacia de estos antibióticos y las declaraciones hechas anteriormente en el contexto de los macrólidos se aplican de forma análoga también a las clases de antibióticos de quinolona y/o  $\beta$ -lactama.

55 En el contexto de los aspectos de la "MDR" de la invención, en otras realizaciones, la bacteria MDR a la que va

dirigida este método de la invención es una bacteria que es resistente a al menos un antibiótico que es un tratamiento convencional o estándar (p. ej., clínicamente aprobado) para (o contra) esa bacteria. El experto en la materia será consciente de los antibióticos convencionales y recomendados para el tratamiento de cualquier infección o enfermedad bacteriana particular. Los factores que dictan qué es un tratamiento convencional son bien conocidos para el experto en la materia e incluyen la naturaleza, ubicación de la bacteria, susceptibilidad intrínseca de la bacteria, la ruta necesaria de administración y la consiguiente farmacocinética de los antibióticos. Típicamente, un antibiótico que es un tratamiento convencional para una bacteria será un antibiótico para el que una bacteria de referencia (es decir típica o natural) de esa especie no presenta resistencia in vitro y/o en el marco clínico. Como se ha discutido antes, el experto en la materia podrá usar ensayos rutinarios para determinar esta información para cualquier antibiótico o bacteria de la que no pueda obtener información convencional de la bibliografía o su conocimiento general común.

Definido de forma alternativa, en determinadas realizaciones la bacteria MDR a la que se dirige según la invención, es una bacteria que ha adquirido (desarrollado) algo o toda su resistencia a antibióticos. En particular, dicha resistencia a antibióticos se adquiere en un marco clínico. Cepas particulares de bacterias que han adquirido multirresistencia a antibióticos se denominan a veces cepas MDR ya que su fenotipo de resistencia difiere del de una cepa correspondiente (p. ej., la cepa natural o una cepa "típica") que no ha adquirido multirresistencia a fármacos, sino que demuestra solo la resistencia innata o intrínseca que es típica de la especie. Por lo tanto, en realizaciones particularmente preferidas, la bacteria a la que se dirige la invención es una bacteria de una cepa MDR de una especie de bacterias (p. ej., una cepa conocida o identificada en la técnica como MDR). En estas realizaciones, la bacteria MDR (p. ej., bacteria de una cepa de bacterias MDR) a la que está dirigido el método de la invención tiene resistencia adquirida o desarrollada a al menos 1, p. ej., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 antibióticos o clases de antibióticos estructural y/o funcionalmente diferentes. En algunos casos, toda la resistencia a antibióticos de la bacteria (p. ej., bacteria de una cepa de bacterias MDR) es adquirida o desarrollada y nada de la resistencia es intrínseca, pero como se ha indicado antes, no es necesariamente el caso en que un fenotipo MDR es adquirido, y la bacteria MDR que se trata según la invención puede ser MDR intrínsecamente (o de forma innata).

La bacteria MDR a la que se dirige según la invención, se puede seleccionar de cualquier género o especie de bacteria. Los ejemplos de géneros o especies de bacterias incluyen, pero sin limitar, *Abiotrophia*, *Achromobacter*, *Acidaminococcus*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Actinobaculum*, *Actinomadura*, *Actinomyces*, *Aerococcus*, *Aeromonas*, *Afiplia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alloiococcus*, *Alteromonas*, *Amycolata*, *Amycolatopsis*, *Anaerobospirillum*, *Anaerorhabdus*, *Arachnia*, *Arcanobacterium*, *Arcobacter*, *Arthrobacter*, *Atopobium*, *Aureobacterium*, *Bacteroides*, *Balneatrix*, *Bartonella*, *Bergeyella*, *Bifidobacterium*, *Bilophila* *Branhamella*, *Borrelia*, *Bordetella*, *Brachyspira*, *Brevibacillus*, *Brevibacterium*, *Brevundimonas*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Buttiauxella*, *Butyrivibrio*, *Calymmatobacterium*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Cardiobacterium*, *Catonella*, *Cedecea*, *Cellulomonas*, *Centipeda*, *Chlamydia*, *Chlamydophila*, *Chromobacterium*, *Chyseeobacterium*, *Chryseomonas*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Collinsella*, *Comamonas*, *Corynebacterium*, *Coxiella*, *Cryptobacterium*, *Delftia*, *Dermabacter*, *Dermatophilus*, *Desulfomonas*, *Desulfovibrio*, *Dialister*, *Dichelobacter*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Edwardsiella*, *Eggerthella*, *Ehrlichia*, *Eikenella*, *Empedobacter*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Erwinia*, *Erysipelothrix*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Ewingella*, *Exiguobacterium*, *Facklamia*, *Filifactor*, *Flavimonas*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Fusobacterium*, *Gardnerella*, *Globicatella*, *Gemella*, *Gordona*, *Haemophilus*, *Hafnia*, *Helicobacter*, *Helococcus*, *Holdemania*, *Ignavigranum*, *Johnsonella*, *Kingella*, *Klebsiella*, *Kocuria*, *Koserella*, *Kurthia*, *Kytococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lautropia*, *Leclercia*, *Legionella*, *Leminorella*, *Leptospira*, *Leptotrichia*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Listonella*, *Megasphaera*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Mitsuokella*, *Mobiluncus*, *Moellerella*, *Moraxella*, *Morganella*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Myroides*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Ochrobactrum*, *Oeskovia*, *Oligella*, *Orientia*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Parachlamydia*, *Pasteurella*, *Pediococcus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Photobacterium*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Porphyrimonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Pseudonocardia*, *Pseudoramibacter*, *Psychrobacter*, *Rahnella*, *Ralstonia*, *Rhodococcus*, *Rickettsia* *Rochalimaea* *Roseomonas*, *Rothia*, *Ruminococcus*, *Salmonella*, *Selenomonas*, *Serpulina*, *Serratia*, *Shewenella*, *Shigella*, *Simkania*, *Slackia*, *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Spirillum*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Stomatococcus*, *Streptobacillus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Succinivibrio*, *Sutterella*, *Suttonella*, *Tatumella*, *Tissierella*, *Trabulsiella*, *Treponema*, *Tropheryma*, *Tsakamurella*, *Turicella*, *Ureaplasma*, *Vagococcus*, *Veillonella*, *Vibrio*, *Weeksella*, *Wolinella*, *Xanthomonas*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, y *Yokenella*; p. ej. bacterias gram positivas tales como, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. typhimurium*, *M. bovis* cepa BCG, subcepas de BCG, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. africanum*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. avium* subspecies *paratuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus equi*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *Nocardia asteroides*, *Actinomyces israelii*, *Propionibacterium acnes*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, y especies *Enterococcus* y bacterias gram negativas tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella typhi*, *Brucella abortus*, *Coxiella burnetii*, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia hirae*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Francisella tularensis*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Cowdria ruminantium*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* y *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* y



*Klebsiella oxytoca* y bacterias no sensibles a gram tales como *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*.

Preferiblemente, la bacteria MDR a la que se dirige según la invención, se selecciona de los siguientes géneros: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Bacteroides*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Bordetella*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Cardiobacterium*, *Chlamydia*, *Chlamydophila*, *Chromobacterium*, *Chyseeobacterium*, *Chryseomonas*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Comamonas*, *Corynebacterium*, *Coxiella*, *Cryptobacterium*, *Edwardsiella*, *Eikenella*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Erwinia*, *Kingella*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Legionella*, *Leptospira*, *Leptotrichia*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Listonella*, *Mobiluncus*, *Moraxella*, *Morganella*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Pantoea*, *Parachlamydia*, *Pasteurella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shewenella*, *Shigella*, *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptobacillus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Treponem* y *Yersinia*.

Como se ha indicado antes, la invención incluye tanto usos médicos como no médicos y por lo tanto, las bacterias que se pueden tratar o combatir de acuerdo con la presente invención incluyen no solo cepas clínicamente relevantes, sino cualquier bacteria que pueda presentar un problema de colonización o contaminación. En algunos aspectos, se prefieren los géneros, especies o cepas clínicamente relevantes.

En algunas realizaciones, la bacteria MDR se selecciona de los géneros *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Pseudomonas* y *Burkholderia*, p. ej. la bacteria es de la especie de *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter baylyi*, *Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter gerneri*, *Acinetobacter grimontii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter parvus*, *Acinetobacter radioresistens*, *Acinetobacter schindleri*, *Acinetobacter tandoii*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Acinetobacter townneri*, *Acinetobacter ursingii*, *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella singaporensis*, *Klebsiella variicola*, *Providencia stuartii*, *Providencia sneebia*, *Providencia rettgeri*, *Providencia rustigianii*, *Providencia heimbachae*, *Providencia burhodogranariae*, *Providencia alcalifaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Pseudomonas argentinensis*, *Pseudomonas borbori*, *Pseudomonas citronellolis*, *Pseudomonas flavescens*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas nitroreducens*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas resinovorans*, *Pseudomonas straminea*, *Pseudomonas cremoricolorata*, *Pseudomonas fulva*, *Pseudomonas monteilli*, *Pseudomonas mosselii*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Pseudomonas parafulva*, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas balearica*, *Pseudomonas luteola*, y *Pseudomonas stutzeri*, *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia andropogonis*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia brasiliensis*, *Burkholderia caledonica*, *Burkholderia caribensis*, *Burkholderia caryophylli*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia fungorum*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia glathei*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia graminis*, *Burkholderia hospita*, *Burkholderia kururiensis*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia phenazinium*, *Burkholderia phenoliruptrix*, *Burkholderia phymatum*, *Burkholderia phytofirmans*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Burkholderia sacchari*, *Burkholderia singaporensis*, *Burkholderia sordidicola*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia terricola*, *Burkholderia thailandensis*, *Burkholderia tropica*, *Burkholderia tuberum*, *Burkholderia ubonensis*, *Burkholderia unamae*, *Burkholderia vietnamiensis*, y *Burkholderia xenovorans*. Las especies *Burkholderia* son de particular interés, en especial *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei* y *Burkholderia mallei*; p. ej. *Burkholderia cepacia*.

Por lo tanto, la invención se puede usar contra bacterias gram positivas o gram negativas o realmente bacterias de gram indeterminado. Las bacterias gram negativas, por ejemplo las especificadas antes, son importantes. Dentro de las bacterias gram negativas las *Enterobacteriaceae* y las bacterias gram negativas no fermentadoras son de particular interés.

Las *Enterobacteriaceae* incluyen, pero sin limitar, bacterias de los géneros *Alishewanella*, *Alterococcus*, *Aquamonas*, *Aranicola*, *Azotijirga*, *Brenneria*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Cronobacter*, *Dickeya*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Grimontella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbactehum*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Phlomobacter*, *Photobacterium*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Raoultella*, *Salmonella*, *Samsonia*, *Serratia*, *Shigella*, *Sodalis*, *Tatumella*, *Trabulsiella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, *Yokenella*: Los géneros preferidos de *Enterobacteriaceae* incluyen *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y *Providencia*.

Las bacterias gram negativas no fermentadoras incluyen, pero sin limitar, bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas* y *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Elizabethkingia* (antes *Chryseeobacterium*), *Methylobacterium*, *Moraxella*, *Ochrobactrum*, *Oligella*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Roseomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium*, p. ej. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, y *Burkholderia spp.*

Preferiblemente, las bacterias se pueden seleccionar de los géneros *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, p. ej. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia spp.*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Acinetobacter lwoffii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Pseudomonas*

*oryzihabitans*, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Pseudomonas luteola*, y MRSA.

Los resultados presentados en los ejemplos más adelante muestran en particular que los oligómeros de alginato se pueden usar junto con diferentes antibióticos contra cepas MDR de *Pseudomonas* y en particular cepas MDR de *P. aeruginosa*. Los resultados también muestran que los oligómeros de alginato se pueden usar de forma eficaz con diferentes antibióticos contra especies *Acinetobacter*, y en particular *A. baumannii* y *A. lwoffii*; contra especies *Burkholderia*, y en particular *B. cepacia*; contra especies *Providencia*, y en particular *P. stuartii*; contra especies *Klebsiella*, y en particular *Klebsiella pneumoniae*; contra *Streptococcus*, y en particular *Streptococcus oralis*; contra *Staphylococcus*, y en particular MRSA; contra *Escherichia*, y en particular *Escherichia coli*, y esta resistencia a antibióticos en estos géneros/especies se puede superar.

En relación con esto, los datos muestran más en general que los oligómeros de alginato pueden ser particularmente eficaces en potenciar (o mejorar/aumentar la eficacia) de los efectos de antibióticos contra especies *Acinetobacter*, y en particular *A. baumannii* y especies *Burkholderia*, y en particular *B. cepacia*. Esto conduce a la propuesta de que en un aspecto, la invención se puede ver más en general relacionada con el uso de oligómeros de alginato en conjunto (o combinación) con un antibiótico para combatir (o para inhibir el crecimiento y/o la viabilidad de) *Acinetobacter* y/o *Burkholderia* (es decir, especies *Acinetobacter* y/o *Burkholderia* en general), por ejemplo para tratar o combatir la infección y/o contaminación (es decir, colonización) con estas bacterias.

En algunos aspectos, la bacteria a la que está dirigida la invención se puede ver de forma alternativa como una bacteria clínicamente relevante, p. ej., una bacteria que se sabe que está asociada con enfermedad y/o infección en sujetos; en especial enfermedades e infecciones que no responden a al menos 3 antibióticos estructural y/o funcionalmente diferentes, o al menos 3 clases de antibióticos, más en particular al menos 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 antibióticos o clases de antibióticos estructural y/o funcionalmente diferentes usados en el tratamiento de esa enfermedad y/o infección. Más en particular, la bacteria a la que se dirige la invención puede ser de una cepa de bacterias MDR clínicamente relevante. La bacteria puede producir o dar como resultado infecciones clínicamente significativas o clínicamente importantes, en otras palabras, las infecciones que son la causa de problemas clínicos significativos. Por ejemplo, la bacteria podría ser una bacteria asociada con infecciones intrahospitalarias, infecciones en el tracto respiratorio de pacientes, p. ej., pacientes que padecen fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias/neumonía obstructiva crónica de las vías respiratorias (COAD/COAP), neumonía, enfisema, bronquitis y sinusitis; infecciones en heridas crónicas (incluyendo quemaduras), infecciones relacionadas con dispositivos asociadas con dispositivos médicos implantables o protésicos, p. ej., endocarditis sobre válvula protésica o infección de tubos o catéteres o articulaciones artificiales o reemplazo de tejido o tubos endotraqueales o de traqueotomía. Los ejemplos de estos tipos de bacterias incluyen *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia spp* (p. ej. *B. cepacia*), *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), *Clostridium difficile*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus* y *Enterococcus* resistente a vancomicina y *Providencia stuartii*.

La bacteria a la que está dirigido el método de la invención puede ser la misma que una bacteria que se ha aislado previamente de un sujeto. Por lo tanto, la bacteria preferiblemente es una cepa clínica o un aislado clínico. La bacteria a la que está dirigido el método de la invención puede estar presente en o sobre un sujeto. La bacteria puede ser conocida o encontrarse que es una MDR, o la bacteria puede haber desarrollado MDR durante el tratamiento del sujeto. En vista de los requisitos para la MDR (o estado de MDR), que puede ser o no o incluir resistencia adquirida, la bacteria que se va a tratar según la presente invención en general no será una cepa de laboratorio o de referencia convencional, p. ej., una cepa tal como *Pseudomonas aeruginosa* PA01 (ATCC 15692) o *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. En otra realización la bacteria no será una MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina), p. ej., la cepa 1103.

En realizaciones representativas, la bacteria puede ser una cepa MDR de *Pseudomonas aeruginosa* que es resistente a uno o más antibióticos seleccionados de penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos; aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos o polipéptidos (p. ej., polimixinas), más en particular, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas o macrólidos, p. ej., amikacina, ciprofloxacina, gentamicina, tobramicina, piperacilina, ticarcilina, colistina, oxitetraciclina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina; en particular ciprofloxacina, colistina, oxitetraciclina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, y en especial ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, p. ej. aztreonam, ciprofloxacina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina y espiramicina.

En otras realizaciones, la bacteria puede ser una cepa MDR de *Klebsiella pneumoniae* que es resistente a uno o más antibióticos seleccionados de penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos o polipéptidos (p. ej., polimixinas), p. ej. cefotaxima, ceftriaxona, amikacina, gentamicina, ciprofloxacina, tobramicina, ampicilina, piperacilina, ticarcilina, colistina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina, imipenem/cilastatina; cefepima, levofloxacina, norfloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina, y ertapenem, en particular ciprofloxacina,

colistina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, y en especial ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina e imipenem/cilastatina, p. ej. aztreonam, ciprofloxacina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina y espiramicina.

- 5 En otras realizaciones, la bacteria puede ser una cepa MDR de *Acinetobacter baumannii* que es resistente a uno o más antibióticos seleccionados de penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, gliciliclinas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos o polipéptidos (p. ej., polimixinas), p. ej. imipenem/cilastatina, ampicilina, cefepima, colistina, rifampina, tigeciclina, amikacina, ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina; en particular colistina, ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, y en especial ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, p. ej. aztreonam, ciprofloxacina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina y espiramicina.
- 10
- 15 En otras realizaciones, la bacteria puede ser una cepa MDR de *Providencia stuartii* que es resistente a uno o más antibióticos seleccionados de penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos o polipéptidos (p. ej., polimixinas), p. ej. cefotaxima, ceftriaxona, amikacina, gentamicina, ciprofloxacina, tobramicina, ampicilina, piperacilina, ticarcilina, colistina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina, imipenem/cilastatina; cefepima, levofloxacina, norfloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina, y ertapenem, en particular ciprofloxacina, colistina, ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, y en especial ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina e imipenem/cilastatina, p. ej. aztreonam, ciprofloxacina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina y espiramicina.
- 20
- 25 En otras realizaciones, la bacteria puede ser una cepa MDR de *Burkholderia cepacia* que es resistente a uno o más antibióticos seleccionados de penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos o polipéptidos (p. ej., polimixinas), p. ej. cefotaxima, ceftriaxona, amikacina, gentamicina, ciprofloxacina, tobramicina, ampicilina, piperacilina, ticarcilina, colistina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina, imipenem/cilastatina; cefepima, levofloxacina, norfloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina, y ertapenem, en particular ciprofloxacina, colistina, ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, y en especial ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina e imipenem/cilastatina, p. ej. aztreonam, ciprofloxacina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina and espiramicina.
- 30
- 35 Los datos de los ejemplos muestran sorprendentemente que los oligómeros de alginato de la invención son particularmente eficaces en potenciar los efectos (aumentar la eficacia) de antibióticos frente a bacterias del género *Burkholderia*. Como se ha discutido antes, *Burkholderia* representa un género importante de bacterias puesto que pueden causar enfermedades en seres humanos y animales y presentan resistencia intrínseca a múltiples clases de antibióticos (p. ej., aminoglucósidos, las  $\beta$ -lactamas y/o los macrólidos). Por lo tanto, los organismos *Burkholderia*, en especial *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei* y *Burkholderia mallei* se considera que son bacterias MDR naturales teniendo en cuenta la resistencia intrínseca presentada como su fenotipo natural. Por supuesto, las cepas de las especies *Burkholderia* pueden adquirir fenotipos de resistencia adicional. Por consiguiente, los tratamientos para las especies *Burkholderia* que potencian los efectos de los antibióticos contra dichas especies tienen una alta demanda.
- 40
- 45 Por lo tanto, una realización preferida de la invención es que la bacteria objetivo es un organismo *Burkholderia*, p. ej. seleccionado de *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia andropogonis*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia brasiliensis*, *Burkholderia caledonica*, *Burkholderia caribensis*, *Burkholderia caryophylli*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia fungorum*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia glathei*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia graminis*, *Burkholderia hospita*, *Burkholderia kururiensis*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia phenazinium*, *Burkholderia phenoliruptrix*, *Burkholderia phymatum*, *Burkholderia phytofirmans*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Burkholderia sacchari*, *Burkholderia singaporensis*, *Burkholderia sordidicola*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia terricola*, *Burkholderia thailandensis*, *Burkholderia tropica*, *Burkholderia tuberum*, *Burkholderia ubonensis*, *Burkholderia unamae*, *Burkholderia vietnamiensis*, y *Burkholderia xenovorans*, en particular *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei* y *Burkholderia pseudomallei* y en especial *Burkholderia cepacia*.
- 50
- 55

Más en general, el uso de oligómeros de alginato para combatir *Burkholderia* (p. ej., para tratar o combatir la infección y/o contaminación (es decir, colonización) por *Burkholderia*) o para aumentar (mejorar) la eficacia de un antibiótico contra *Burkholderia*, representa un aspecto particular preferido y separado de esta invención.

- 60 Por consiguiente, en otro aspecto la invención proporciona un método para mejorar la eficacia de un antibiótico, y en particular la eficacia de un antibiótico para inhibir el crecimiento y/o la viabilidad de un organismo *Burkholderia* (que

incluye la inhibición del crecimiento de una población de Burkholderia, así como el crecimiento de un organismo Burkholderia), comprendiendo dicho procedimiento usar dicho antibiótico junto con (en conjunto o combinación con) un oligómero de alginato (que puede ser cualquier oligómero de alginato como se define en la presente memoria, y en especial los indicados ya como que son preferidos; p. ej., los oligómeros de “alto contenido de G”, “alto contenido de M”, de “bloques G” y de “bloques M”). Los oligómeros que se usan en ese aspecto pueden ser en especial aquellos con los tamaños, intervalos de tamaños y distribuciones de pesos moleculares establecidos como preferidos anteriormente. La discusión de los oligómeros de alginato preferidos de la invención se aplica, cambiando lo que se deba cambiar, a este aspecto de la invención.

Más en particular, la etapa de uso puede comprender poner en contacto el organismo Burkholderia con un oligómero de alginato al mismo o sustancialmente al mismo tiempo o antes de poner en contacto el organismo Burkholderia con el antibiótico. En particular, y de acuerdo con las descripciones hechas antes (y específicamente las definiciones proporcionadas en la presente memoria), que se puede leer como que se aplican a todos los aspectos de la presente invención, la etapa de poner en contacto la bacteria con el oligómero de alginato puede incluir administrar el oligómero de alginato y el antibiótico a un sujeto.

El antibiótico se puede seleccionar de cualquier antibiótico discutido antes. Los antibióticos preferidos se pueden seleccionar de  $\beta$ -lactamas (p. ej. los carbacefémicos (p. ej. loracarbef); las cefalosporinas de 1<sup>a</sup> generación (p. ej. cefadroxil, cefazolina, cefalexina); cefalosporinas de 2<sup>a</sup> generación (p. ej. cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima); cefalosporinas de 3<sup>a</sup> generación (p. ej. cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona); cefalosporinas de 4<sup>a</sup> generación (p. ej. cefepima); los monobactámicos (p. ej. aztreonam); las penicilinas (p. ej. amoxicilina, ampilicina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina, ticarcilina) los carbapenémicos (p. ej. imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601 )); los macrólidos (p. ej. azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, troleandomicina); las quinolonas (p. ej. ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina); y las tetraciclinas (p. ej. demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina).

Más preferiblemente el antibiótico se selecciona de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, troleandomicina, tilosina, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina y tetraciclina, p. ej. aztreonam, ciprofloxacina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina, oxitetraciclina, ceftazidima e imipenem. En realizaciones particularmente preferidas el antibiótico se selecciona de aztreonam, ceftazidima, azitromicina, claritromicina y eritromicina.

En otras realizaciones el antibiótico usado no es tobramicina, amikacina y/o colistina. En otras realizaciones, el antibiótico usado no es un aminoglucósido o un antibiótico polipéptido. En otras realizaciones el antibiótico usado no es un antibiótico que tenga una carga positiva en las condiciones en las que se usará con el oligómero de alginato, p. ej., antibióticos con al menos 3, p. ej., al menos 4, 5, 6 ó 7 grupos amino (-NH<sub>2</sub>).

El organismo Burkholderia puede ser de cualquier especie Burkholderia, p. ej., cualquiera de los descritos en la presente memoria, en particular el organismo Burkholderia será *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei* o *Burkholderia pseudomallei*, en especial *Burkholderia cepacia*. En algunas realizaciones, el organismo Burkholderia es resistente al antibiótico.

En una realización, el organismo Burkholderia o la población del mismo, no estará en una biopelícula o en el proceso de formación de una biopelícula. En otra realización, el organismo Burkholderia o la población del mismo, estará en una biopelícula.

El método puede ser un método in vitro o in vivo y puede tener aplicaciones no médicas y médicas. En este último caso, el método se puede ver como un método para el tratamiento de una infección por Burkholderia (p. ej., una infección por *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei* o *Burkholderia pseudomallei*) en un sujeto (p. ej., aquellos sujetos descritos y preferidos en la presente memoria), comprendiendo dicho método administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un oligómero de alginato junto con una cantidad farmacéuticamente eficaz de un antibiótico. Esta realización se extiende a todos y cada uno de los usos médicos, enfermedades y localizaciones de la infección descritos en la presente memoria cuando impliquen organismos Burkholderia.

Por lo tanto, la invención proporciona un oligómero de alginato para usar junto con (o en combinación o en conjunto con) un antibiótico para el tratamiento o prevención de una infección por Burkholderia en un sujeto. El sujeto puede estar infectado, sospecharse que está infectado o tener riesgo de infección por Burkholderia. El Burkholderia puede ser de cualquier especie mencionada en la presente memoria. La expresión “usar junto” debe interpretarse como se ha discutido anteriormente.

Expresado de forma alternativa, la invención proporciona el uso de un oligómero de alginato para la fabricación de

un medicamento para usar junto con un antibiótico en el tratamiento de una infección por Burkholderia en un sujeto. El medicamento puede comprender además el antibiótico.

5 El medicamento puede estar en forma de una sola composición o formulación que comprende el oligómero de alginato y el o los antibióticos, o se pueden preparar y usar composiciones o formulaciones separadas, que contienen cada una el oligómero de alginato o el o los antibióticos, respectivamente.

Por lo tanto, en un aspecto más particular, la presente invención proporciona el uso de un oligómero de alginato y al menos un antibiótico para la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de una infección por Burkholderia en un sujeto.

10 Por lo tanto, un aspecto adicional de la invención proporciona un producto que contiene un oligómero de alginato y un antibiótico (o antibióticos) como una preparación combinada para el uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento de una infección por Burkholderia en un sujeto.

15 En una realización adicional de este aspecto de la invención se proporciona un método para combatir la contaminación de un sitio con un organismo Burkholderia, comprendiendo dicho método poner en contacto el sitio y/o el organismo Burkholderia con (una cantidad eficaz de) un oligómero de alginato junto con (una cantidad eficaz de) al menos un antibiótico. Dicho método puede ser en particular un método in vitro, y el sitio puede ser cualquier superficie o ubicación discutida en la presente memoria.

Como se ha indicado antes, en estos aspectos de la invención, el oligómero de alginato puede mejorar la eficacia del antibiótico, y en particular la eficacia del antibiótico para inhibir el crecimiento del organismo Burkholderia.

20 Las referencias a “mejorar la eficacia de un antibiótico para inhibir el crecimiento y/o la viabilidad de un organismo Burkholderia” deben considerarse de acuerdo con la discusión precedente de lo que significa “mejorar la eficacia de un antibiótico macrólido para inhibir el crecimiento y/o la viabilidad de bacterias”.

25 Este aspecto también permite reducir la concentración del antibiótico administrado a un sujeto o aplicado en un sitio con el fin de combatir un organismo Burkholderia, mientras que se mantiene la misma eficacia. Esto puede ser beneficioso si el antibiótico es caro o está asociado con efectos secundarios. La minimización del uso de antibióticos también es deseable para minimizar el desarrollo de resistencia. De acuerdo con la invención, el uso de un oligómero de alginato junto con un antibiótico permite usar el antibiótico en una concentración que es menos de 50%, menos de 25%, menos de 10%, o menos de 5% de la cantidad administrada/aplicada normalmente para lograr un nivel de inhibición particular del crecimiento de un organismo Burkholderia en ausencia del oligómero de alginato.

30 En este aspecto, los oligómeros de alginato pueden ser cualquiera de los discutidos y en particular los expuestos como preferidos anteriormente, y los oligómeros de alginato se aplicarán al organismo Burkholderia y/o su ubicación con una concentración local de al menos 2%, al menos 4%, al menos 6%, al menos 8% o al menos 10% en peso por volumen.

35 Aunque en algunos aspectos de la invención como se ha discutido anteriormente, la bacteria puede ser *Acinetobacter*, en algunas realizaciones particulares la bacteria MDR a la que están dirigidos los métodos de la invención no es *Acinetobacter baumannii*, o ninguna especie *Acinetobacter*. En otras realizaciones, el antibiótico usado contra *Acinetobacter baumannii*, o cualquier otra *Acinetobacter*, no es azitromicina o ningún macrólido.

40 Por “resistente a un antibiótico” se entiende que la bacteria presenta una tolerancia sustancialmente mayor (menor susceptibilidad) a un antibiótico comparado con una bacteria de referencia sensible al antibiótico o una versión típica o natural de la bacteria. Dicha tolerancia sustancialmente mayor puede ser una disminución estadísticamente significativa de la susceptibilidad a los antibióticos, medido por ejemplo en ensayos convencionales, tales como ensayos de la CMI. En algunos casos, una bacteria puede ser completamente inafectada por la exposición a un antibiótico. En este caso, la bacteria se puede considerar totalmente resistente a ese antibiótico.

45 Una bacteria de referencia adecuada es *Oxford Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) aunque se conocen muchas otras en la técnicas y están fácilmente disponibles. Las versiones típicas o naturales de una bacteria se pueden obtener fácilmente de laboratorios y colecciones de cultivo de todo el mundo.

50 La susceptibilidad (y a la inversa resistencia y tolerancia) al antibiótico se puede medir de cualquier forma conveniente, p. ej., con ensayos de susceptibilidad por dilución y/o ensayos de difusión en disco. El experto en la técnica apreciará que la extensión de la diferencia en la tolerancia/susceptibilidad suficiente para constituir la resistencia variará dependiendo del antibiótico y organismo que se ensaya y el ensayo usado. Sin embargo, una bacteria resistente preferiblemente será al menos 2, p. ej., al menos 3, 4, 5, 6, 10, 20 ó 50 veces más tolerante al antibiótico que la bacteria de referencia sensible al antibiótico o una versión típica o natural de la bacteria. Preferiblemente, la resistencia de una bacteria particular a un antibiótico se determina usando bacterias que no están en una biopelícula o que no tienen un fenotipo de biopelícula.

55 El ensayo de concentración mínima inhibidora (CMI) (Jorgensen et al., *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. Washington, D.C: American Society for Microbiology, 1999; 1526-43) es un ensayo de susceptibilidad por dilución

para usar. Este ensayo mide la tolerancia relevante de una bacteria a antibióticos, determinando la concentración más baja del antibiótico que produce la inhibición completa del crecimiento. Una bacteria resistente a un antibiótico tendrá un valor de CMI sustancialmente mayor para el antibiótico que el de una bacteria de referencia sensible al antibiótico o una versión típica o natural de la bacteria, p. ej., la bacteria resistente tendrá un valor de CMI para el antibiótico que es al menos 2 veces, o al menos 4 veces, al menos 8 veces, al menos 16 veces, al menos 32 veces o al menos 60 veces mayor. Expuesto de otra forma, el valor de CMI de la bacteria resistente para el antibiótico puede ser al menos el doble, al menos el cuádruple, al menos el óctuple, al menos 16 veces más o al menos 32 veces más el valor de la CMI de la bacteria de referencia sensible al antibiótico o una versión típica o natural de la bacteria.

Visto de forma alternativa, y en el contexto de una bacteria in vivo y/o el tratamiento de una infección bacteriana que es resistente a múltiples clases de antibióticos, una bacteria se puede considerar resistente a un antibiótico si la bacteria tiene un valor de CMI para el antibiótico que es mayor que la concentración máxima segura en la circulación del antibiótico en un sujeto (la cual puede determinar fácilmente el experto en la técnica). De manera más funcional, una bacteria es resistente a un antibiótico si una infección asociada con esa bacteria no responde (es decir, no han cambiado en los indicios clínicos de la infección) a la dosis máxima segura del antibiótico.

“Superar la resistencia” debe interpretarse de acuerdo con una reducción medible de los indicadores descritos antes de resistencia (o aumento medible de susceptibilidad o disminución medible de tolerancia) al antibiótico, presentada por la bacteria. Por lo tanto, “superar la resistencia” se puede expresar de forma alternativa como “reducir la resistencia”. Es una referencia del fenotipo observado de la bacteria objetivo y no debe considerarse necesariamente equivalente a una inversión, en ninguna extensión, a nivel mecanístico de ningún mecanismo de resistencia particular. Como puede verse a partir de los ejemplos, los oligómeros de alginato y antibióticos tienen un efecto combinatorio, p. ej. sinérgico, que hace que una bacteria con un fenotipo que es resistente a un antibiótico, sea más susceptible a ese antibiótico. En una realización, el oligómero de alginato reducirá de forma medible el valor de CMI de la bacteria resistente al antibiótico, p. ej., el valor de CMI será al menos 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 2% o 1% del valor de MCI de la bacteria para el antibiótico antes de tratamiento de acuerdo con la invención.

Por lo tanto, el uso de oligómeros de alginato según la presente invención puede potenciar el efecto de un antibiótico (o aumentar o mejorar su eficacia). Puede hacer utilizable (o eficaz) un antibiótico que se pensaba previamente que no se podía usar/no era eficaz contra un organismo particular, o un antibiótico que normalmente no es eficaz contra un organismo dado (p. ej., bacteria o especie bacteriana en cuestión). También puede permitir usar un antibiótico a con una dosis menor.

Los efectos de los oligómeros de alginato en la superación de la resistencia a antibióticos o en potenciar (etc.) los efectos de los antibióticos, se pueden ver independientemente del mecanismo de resistencia al antibiótico en cuestión. No obstante, se han observado resultados particularmente buenos con la ciprofloxacina. La resistencia a este antibiótico puede implicar acumulación de mutaciones, en particular en el ADN que codifica los genes de la girasa o topoisomerasa IV. Sin querer estar ligado por la teoría, los oligómeros de alginato de la invención pueden afectar, por lo tanto, a este proceso de acumulación, p. ej. previniéndolo, ralentizándolo o deteniéndolo. Sin embargo, no se supone o sugiere con esto, que los oligómeros de alginato puedan tener cualquier efecto en cualquier mecanismo de resistencia.

En una realización preferida del método de la invención, el oligómero de alginato supera la resistencia a al menos 2, p. ej. al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o todos los antibióticos o clases de antibióticos estructural y/o funcionalmente diferentes a los que es resistente la bacteria. Sin embargo, como se ha indicado antes, no se requiere, o no implica, que se supere toda la resistencia de cualquier cepa MDR dada. Por ejemplo, la invención puede ser eficaz para superar la resistencia a determinadas clases de antibióticos en una cepa MDR dada (p. ej., a macrólidos y/o quinolonas y/o  $\beta$ -lactamas) y esto puede ser clínicamente útil, incluso aunque pueda permanecer la resistencia a otros antibióticos. Esta realización implicará preferiblemente el uso de una pluralidad de antibióticos que corresponden en número e identidad a algunas o todas las resistencias de antibióticos superadas.

En otras realizaciones, el método de la invención supera la resistencia en una bacteria MDR (p. ej., una bacteria de una cepa de bacterias MDR) a al menos un antibiótico que es un tratamiento convencional de esa bacteria. Expresado de forma diferente, el método de la invención puede superar la resistencia en una bacteria MED (p. ej., una bacteria de una cepa de bacterias MDR) a un antibiótico al que esa bacteria ha adquirido o desarrollado resistencia. En estas realizaciones, el método de la invención supera al menos una resistencia adquirida en una bacteria MDR (p. ej., una bacteria de una cepa de bacterias MDR) que ha adquirido resistencia a al menos uno, p. ej., al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 antibióticos o clases de antibióticos estructural y/o funcionalmente diferentes. Preferiblemente, se supera toda la resistencia adquirida de la bacteria al antibiótico. Estará claro para el lector experto que, por lo tanto, la invención permite el tratamiento de una bacteria MDR (p. ej., una bacteria de una cepa de bacterias MDR) con un antibiótico que se ha vuelto ineficaz en el tratamiento de esa bacteria. Sin embargo, como se ha indicado antes, no toda la resistencia en un fenotipo MDR puede ser adquirida y la invención no se limita a esto. Por lo tanto, la invención se puede usar en el tratamiento de bacterias que son MDR de forma innata.

El método de la invención puede implicar poner en contacto la bacteria con más de un antibiótico. El o los antibióticos adicionales pueden ser cualquier antibiótico, p. ej., los listados anteriormente. El o los antibióticos

adicionales pueden ser un antibiótico al que es susceptible la bacteria. El o los antibióticos adicionales pueden ser un antibiótico al que la bacteria es resistente. El o los antibióticos adicionales se pueden usar junto con (en conjunto o combinación con) el primero u otros antibióticos y/o el oligómero alginato. Más en particular, la etapa de usar puede comprender poner en contacto la bacteria con un oligómero de alginato al mismo o sustancialmente al mismo tiempo o antes de poner en contacto la bacteria con algunos o todos los antibióticos en una cantidad eficaz para superar la resistencia de la bacteria al o a los antibióticos.

Como se ha indicado antes, el o los antibióticos se pueden aplicar o administrar de forma conveniente simultáneamente con el oligómero de alginato, o inmediatamente o casi inmediatamente antes o después del oligómero de alginato. Sin embargo, el o los antibióticos se pueden aplicar o administrar en un tiempo diferente, p. ej. al menos 1 h, al menos 3 h, al menos 6 h después del oligómero de alginato. Está en la habilidad del médico desarrollar regímenes de dosificación que optimicen el efecto del oligómero de alginato y el antibiótico. En estas realizaciones, el o los antibióticos se pueden aplicar o administrar con o sin una aplicación adicional de un oligómero de alginato. El oligómero de alginato se puede aplicar o administrar en una pluralidad de aplicaciones antes de o con el o los antibióticos. En otras realizaciones, el o los antibióticos se pueden aplicar o administrar de forma conveniente antes del oligómero de alginato, p. ej., al menos 1 h, al menos 3 h, al menos 6 h antes del oligómero de alginato. En estas realizaciones, el oligómero de alginato se puede aplicar o administrar con o sin una aplicación adicional del o de los antibióticos. El o los antibióticos se pueden aplicar o administrar en una pluralidad de aplicaciones antes de o con el oligómero de alginato. El experto en la técnica puede determinar fácilmente lo que sería un régimen de dosificación adecuado para el oligómero de alginato y el o los antibióticos que pretende usar.

Las combinaciones de antibióticos preferidas pueden ser dos o más de colistina, ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina, amikacina, gentamicina, oxitetraciclina, tobramicina y vancomicina. Más en particular, estos se pueden seleccionar de ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina imipenem/cilastatina o oxitetraciclina, y todavía más en particular de ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina e imipenem/cilastatina.

En realizaciones preferidas, la bacteria es una *Acinetobacter*, *Klebsiella*, o *Pseudomonas* (p. ej. *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, o *Pseudomonas aeruginosa*) resistente a ceftazidima, ciprofloxacina y azitromicina y los antibióticos usados son ceftazidima o ciprofloxacina junto con azitromicina o todos de ceftazidima, ciprofloxacina y azitromicina.

La ubicación de la bacteria a la que se puede dirigir cualquier aspecto de la presente invención, no está restringida, y por lo tanto, como se ha indicado antes, no solo están cubiertos los usos médicos, sino también usos no médicos donde la bacteria no está presente sobre o en un sujeto clínico, pero puede estar presente, por ejemplo, en una ubicación abiótica, es decir, la invención se puede llevar a cabo in vitro. La bacteria puede estar presente sobre una superficie. La superficie no está limitada e incluye cualquier superficie en la que pueda estar una bacteria. La superficie puede ser biótica o abiótica, y las superficies inanimadas (o abióticas) incluyen cualquiera de dichas superficies que pueda estar expuesta a contacto o contaminación microbiana. Por lo tanto, están incluidas en particular superficies de equipos médicos o maquinaria, p. ej. maquinaria industrial, o cualquier superficie expuesta a un entorno acuático (p. ej., equipamiento marino, o embarcaciones o barcos o sus piezas o componentes), o cualquier superficie expuesta a cualquier parte del entorno, p. ej., tuberías o en edificios. Dichas superficies inanimadas expuestas a contacto o contaminación microbiana incluyen en particular, cualquier parte de: maquinaria o equipamiento de procesamiento, preparación, almacenamiento o dispensación de alimentos o bebidas, aparatos de aire acondicionado, maquinaria industrial, p. ej., en industrias de procesamiento químico o biotecnológico, depósitos de almacenamiento, equipamiento médico o quirúrgico y equipamiento de cultivo celular y tisular. Cualquier aparato o equipamiento para llevar o transportar o suministrar materiales es susceptible de contaminación microbiana. Dichas superficies incluirán en particular tuberías (cuyo término se usa de forma amplia en la presente memoria para incluir cualquier conducto o tubo). Las superficies inanimadas o abióticas representativas incluyen, pero sin limitar, equipamiento o superficies de procesamiento, almacenamiento, dispensación o preparación de alimentos, depósitos, transportadores, suelos, tubos de drenaje, refrigerantes, congeladores, superficies de equipamiento, paredes, válvulas, cintas, tuberías, conductos de aire acondicionado, aparatos de enfriamiento, tubos de dispensación de alimento o bebida, intercambiadores de calor, cascos de embarcaciones o cualquier parte de una estructura de embarcación que está expuesta al agua, conductos de agua dentales, o conductos de perforación para petróleo, lentes de contacto y cajas de almacenamiento.

Como se ha indicado antes, el equipamiento o dispositivos médicos o quirúrgicos representan una clase particular de superficie en la que se puede formar la contaminación bacteriana. Esto puede incluir cualquier clase de tubo, incluyendo catéteres (p. ej. catéteres venosos centrales y urinarios), dispositivos protésicos, p. ej. válvulas cardíacas, articulaciones artificiales, dientes falsos, coronas dentales, fundas dentales e implantes de tejido blando (p. ej., implantes de pecho, glúteos y labios). Está incluido cualquier clase de dispositivo médico implantable (o "permanente") (p. ej., prótesis endovascular, dispositivos intrauterinos, marcapasos, tubos de intubación (p. ej., tubos endotraqueal o de traqueotomía), prótesis o dispositivos protésicos, tubos o catéteres). Un dispositivo médico "permanente" puede incluir un dispositivo en el que cualquier parte del mismo está contenido dentro del cuerpo, es decir, el dispositivo puede ser totalmente o parcialmente permanente.

La superficie puede estar hecha de cualquier material. Por ejemplo, puede ser de metal, p. ej. aluminio, acero, acero inoxidable, cromo, titanio, hierro, aleaciones de los mismos, y similares. La superficie también puede ser de plástico, por ejemplo, poliolefina (p. ej., polietileno, polietileno (ultra alto peso molecular, polipropileno, poliestireno, poli(met)acrilato, acrilonitrilo, butadieno, ABS, acrilonitrilo-butadieno, etc.). poliéster (p. ej., poli(tereftalato de etileno), etc.) y poliamida (p. ej., nailon), combinaciones de los mismos y similares. Otros ejemplos incluyen copolímero de acetato, polifenilsulfona, polisulfona, politermida, policarbonato, polieteretercetona, poli(fluoruro de vinilo), poli(metacrilato de metilo) y politetrafluoroetileno. La superficie también puede ser de ladrillo, teja, cerámica, porcelana, madera, vinilo, linóleo, alfombra, combinaciones de los mismos, y similares. Las superficies también pueden ser alimentos, por ejemplo, carne de vaca, pollo, cerdo, verduras, frutas, pescado, marisco, combinaciones de los mismos, y similares. El "tratamiento" de cualquiera de dichas superficies (es decir, la aplicación en cualquiera de dichas superficies de un oligómero de alginato junto con un antibiótico) para combatir la infección por una bacteria MDR está englobada por la presente invención.

En una infección por una bacteria MDR, que se puede tratar de acuerdo con la presente invención, la bacteria puede estar en o sobre una superficie en un sujeto. Además, fuera del contexto del tratamiento médico, también pueden encontrarse bacterias en superficies bióticas. Por lo tanto, la invención incluye el tratamiento de superficies bióticas. Una superficie biótica o animada puede incluir cualquier superficie o interfase en o sobre un cuerpo animal, vegetal o fúngico. Por consiguiente, se puede ver como una superficie "fisiológica" o "biológica". Puede ser una superficie corporal interna o externa, incluyendo cualquier tejido u órgano, que en el caso de un cuerpo animal, puede incluir tejido hematológico o hematopoyético (p. ej., sangre). El tejido muerto o que está muriendo (p. ej., necrótico) o dañado (p. ej., inflamado o alterado o roto) es particularmente susceptible a la contaminación bacteriana, y dicho tejido está abarcado por el término "animado" o "biótico". La superficie puede ser una superficie mucosa o no mucosa.

Las superficies bióticas representativas incluyen, pero no se limitan a cualquier superficie en la cavidad oral (p. ej., dientes, encías, surco gingival, bolsa periodontal), el aparato reproductor (p. ej., cuello uterino, útero, trompas de Falopio), peritoneo, oído medio, próstata, tracto urinario, íntima vascular, el ojo, es decir tejido ocular (p. ej., la conjuntiva, tejido corneal, conducto lagrimal, glándula lagrimal, párpado), el tracto respiratorio, tejido pulmonar (por ejemplo, bronquial y alveolar), válvulas del corazón, tracto gastrointestinal, piel, cuero cabelludo, uñas y el interior de heridas, en particular heridas crónicas y heridas quirúrgicas, que pueden ser heridas tóxicas o internas. Otras superficies incluyen el exterior de órganos, en particular los sometidos a trasplante, por ejemplo, corazón, pulmones, riñón, hígado, válvula cardíaca, páncreas, intestino, tejido corneal, injertos arteriales y venosos y piel.

En un aspecto, la superficie no será mucosa, o más en particular no tendrá un recubrimiento mucoso hiperviscoso. El experto en la materia podrá determinar cuando el modo en una superficie dada es hiperviscoso. En una realización, la superficie no será la superficie de un tejido que secreta moco. Más en particular, en dicha realización, la superficie no será la superficie de un tejido recubierto de moco. El experto en la técnica a partir de su conocimiento general sabrá los tejidos que secretan moco y los que están recubiertos de moco.

La ubicación también puede ser una ubicación que no es una superficie. En otras palabras, la bacteria se puede encontrar dentro de un material así como en su superficie. El material puede ser químicamente heterogéneo así como químicamente homogéneo. El material también puede estar construido o formado por o compuesto de diferentes partes o componentes. El material puede ser una parte de un material o entidad mayor. El material puede ser o comprender los materiales a partir de los cuales se forman las superficies mencionadas anteriormente. En algunos casos, el material se puede considerar que es un objeto, cuyo término cubre volúmenes de líquidos dondequiera que se encuentren. El material puede comprender cualquiera de las superficies descritas anteriormente. El material puede ser abiótico o biótico (inanimado o animado) como se ha discutido anteriormente en relación con las superficies. Por ejemplo, el material puede ser, completamente o en parte, un sólido, un líquido, un semisólido, un gel o un gel-sol. Por lo tanto, por ejemplo, la bacteria puede estar presente en fluidos corporales (p. ej., sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, contenidos del tracto GI, semen, esputo y otras secreciones pulmonares); tejidos (p. ej., suprarrenal, hepático, renal, pancreático, hipofisario, tiroideo, inmunológico, ovárico, testicular, prostático, endometrial, ocular, mamario, adiposo, epitelial, endotelial, neural, muscular, pulmonar, epidérmico, óseo); medio de cultivo celular y tisular; cultivos celulares y tisulares; materiales de desecho clínicos/científicos (que pueden comprender cualquiera de los materiales precedentes); productos farmacéuticos (p. ej., comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles, pulverizadores, composiciones para usar en nebulizadores, pomadas, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, disoluciones inyectables estériles, polvos envasados estériles); productos alimenticios para animales o seres humanos (p. ej., carne, pescado, marisco, verduras, cereales, productos lácteos, zumos de frutas, zumos de verduras, salsas, reservas, sopas, confitería, bebidas alcohólicas, condimentos); productos de higiene personal (p. ej., pasta de dientes, enjuagues bucales, champú, jabón, desodorante, gel de ducha); productos cosméticos (p. ej., brillo de labios, sombra de ojos, base); suministros de agua potable; suministros de aguas residuales; suministros agrícolas, piensos y agua; formulaciones insecticidas, pesticidas y herbicidas; lubricantes industriales etc. Hay que mencionar los líquidos, semisólidos, geles o gel-soles. Los fluidos corporales y tejidos se pueden tratar in vitro/ex vivo y también se pueden tratar los mismos in vivo.

En algunas realizaciones, la bacteria estará en una biopelícula. En otras realizaciones, la bacteria no estará en una biopelícula (p. ej., crecerá de forma planctónica). Expresado de forma diferente, la bacteria estará o no estará en un



modo de crecimiento de biopelícula; o estará o no estará en un modo de crecimiento que no es biopelícula.

5 Por "biopelícula" se entiende una comunidad de microorganismos caracterizada por una predominancia de células sésiles que están unidas a un sustrato o interfase o entre sí (también pueden estar presentes algunas células móviles) y que están insertadas en una matriz de polímeros extracelulares (más específicamente polímeros extracelulares que han producido) caracterizada por que los microorganismos de esta colonia presentan un fenotipo alterado con respecto a la velocidad de crecimiento y la transcripción génica (por ejemplo, comparado con sus homólogos "no biopelículas", o de libre flotación o planctónicos). Por "en una biopelícula" se entiende que la bacteria a la que está dirigido el método de la invención está dentro (completamente o en parte), sobre o asociada con la matriz de biopolímero de una biopelícula. Visto de forma diferente, las bacterias que "no están en una biopelícula" son organismos que están en forma aislada, p. ej. planctónica, o en una agregación de una pluralidad de organismos, esta agregación no está organizada y/o carece de la matriz característica de una biopelícula. En cada caso, las bacterias individuales no presentan un fenotipo alterado que se observa en sus homólogos que residen en biopelículas.

15 Se aprecia que los organismos Acinetobacter pueden formar una cápsula a partir de los polímeros extracelulares (p. ej., polisacáridos) que han producido y los organismos Acinetobacter típicamente se encuentran con esta cápsula. También se aprecia que la simple presencia de una cápsula de polímero en un organismo Acinetobacter no es funcionalmente equivalente a un modo de biopelícula de crecimiento y, por lo tanto, la presencia de dicha cápsula no es en si misma indicativa de un fenotipo de biopelícula. Por lo tanto, también se apreciará que los organismos Acinetobacter que "no están en biopelícula" pueden estar todavía en contacto con una matriz de polímeros extracelulares que han producido (es decir, la cápsula), pero dichos organismos no presentarán un fenotipo alterado que se observa en sus homólogos que residen en biopelículas. Por lo tanto, en el caso particular de Acinetobacter, por "en una biopelícula" se entiende que el organismo Acinetobacter está dentro (completamente o en parte), sobre o asociado con la matriz de polímero de una biopelícula y tiene un fenotipo característico de organismos Acinetobacter en una biopelícula (es decir, un fenotipo que está alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción génica, por ejemplo comparado con organismos Acinetobacter que "no están en biopelículas" o de libre flotación o planctónicos. Los organismos Acinetobacter que "no están en una biopelícula" son organismos que están en forma aislada, p. ej. planctónica, o en una agregación de una pluralidad de organismos, esta agregación no está organizada. En cada caso, las bacterias Acinetobacter individuales no presentan un fenotipo alterado que se observa en sus homólogos que residen en biopelículas.

20 A partir de lo anterior, está claro que los métodos de la invención, es decir, los descritos anteriormente, tienen aplicaciones médicas y no médicas. En particular, la invención proporciona un método para combatir la contaminación de un sitio con bacterias que son MDR, en particular el tratamiento en un sujeto de una infección bacteriana que es MDR y también un método para combatir una población de bacterias MDR. Por lo tanto, el método puede ser un método in vitro o in vivo. Como se explica con más detalle más adelante, "combatir" incluye tanto el tratamiento de una contaminación o infección existente, como el tratamiento para prevenir que se produzca una contaminación o infección, es decir, tanto tratamientos "terapéuticos"/de reacción como profilácticos.

25 Por consiguiente, en un aspecto de la invención se proporciona un método para el tratamiento o prevención de una infección en un sujeto por una bacteria MDR, comprendiendo dicho método administrar a dicho sujeto una cantidad farmacéuticamente eficaz de un oligómero de alginato junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un antibiótico al que la bacteria es resistente.

30 Por lo tanto, la invención proporciona un oligómero de alginato para usar junto con (o en combinación o en conjunto con) al menos un antibiótico en el tratamiento o prevención de una infección en un sujeto por una bacteria MDR, en el que la bacteria es resistente al antibiótico.

35 La expresión "usar junto" debe entenderse como se ha discutido anteriormente, aunque significa en particular que se administra una cantidad farmacéuticamente eficaz del oligómero de alginato al mismo o sustancialmente al mismo tiempo o antes, o después de la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del antibiótico.

Expresado de forma alternativa, la invención proporciona el uso de un oligómero de alginato para la fabricación de un medicamento para usar junto con un antibiótico en el tratamiento o prevención de una infección en un sujeto por una bacteria MDR, en el que la bacteria es resistente al antibiótico.

40 Como se ha indicado antes, el medicamento puede comprender además el antibiótico, y se pueden proporcionar y usar composiciones o formulaciones únicas o separadas, como se ha discutido anteriormente.

Este aspecto de la invención también proporciona el uso de un oligómero de alginato junto con un antibiótico en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de una infección en un sujeto por una bacteria MDR, en el que la bacteria es resistente al antibiótico.

45 También se proporciona de acuerdo con este aspecto de la invención, un producto que contiene un oligómero de alginato y un antibiótico como una preparación combinada para el uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento o prevención de una infección de un sujeto por una bacteria multirresistente MDR, en el que la bacteria es resistente al antibiótico.

La bacteria MDR puede ser cualquier especie de bacteria, p. ej. las discutidas y mencionadas anteriormente como preferidas, p. ej. un organismo Burkholderia, p. ej. *Burkholderia cepacia*. El antibiótico puede ser cualquier antibiótico, p. ej. los discutidos y mencionados anteriormente como preferidos, p. ej. un macrólido, p. ej. azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina o espiramicina.

5 El sujeto puede ser cualquier sujeto humano o animal no humano, pero más en particular puede ser un vertebrado, p. ej. un animal seleccionado de mamíferos, aves, anfibios, peces y reptiles. El animal puede ser ganado o un animal doméstico o un animal de valor comercial, incluyendo animales de laboratorio o un animal en un zoo o un parque de juegos. Por lo tanto, los animales representativos incluyen perros, gatos, conejos, ratones, cobayas, hámsteres, caballos, cerdos, ovejas, cabras, vacas, gallinas, pavos, pintadas, patos, gansos, loros, periquitos, palomas, salmón, 10 trucha, bacalao, abadejo, lubina y carpa. Por lo tanto, están cubiertos los usos veterinarios de la invención. El sujeto se puede ver como un paciente. Preferiblemente el sujeto es un ser humano.

La expresión “en un sujeto” se usa de forma amplia en la presente memoria para incluir sitios o ubicaciones dentro de un sujeto o sobre un sujeto, p. ej. una superficie corporal exterior, y puede incluir en particular la infección de un dispositivo médico, p. ej. un dispositivo médico implantado o “permanente”. La expresión “en un paciente” debe 15 interpretarse de modo coherente con esto.

La ubicación de la infección no está restringida y puede ser cualquier sitio o ubicación en un sujeto descrito anteriormente. La administración del oligómero de alginato y el antibiótico al sujeto preferiblemente da como resultado el contacto de la ubicación infectada con un oligómero de alginato y antibiótico en cantidades suficientes para tratar la infección.

20 La infección puede ser aguda, o alternativamente crónica, p. ej. una infección que ha persistido durante al menos 5 o al menos 10 días, en particular al menos 20 días, más en particular al menos 30 días, lo más en particular al menos 40 días.

En este aspecto de la invención, la infección se puede encontrar en una superficie en o sobre el sujeto (es decir, una superficie abiótica como se ha discutido anteriormente) y/o una superficie de un dispositivo médico, en particular un dispositivo médico implantable o “permanente”, cuyos ejemplos representativos se han discutido anteriormente. 25

En una realización, los métodos o usos de la invención pueden comprender una etapa en la que se identifica al sujeto (p. ej. se diagnostica) como que tiene o se sospecha que tiene una infección bacteriana MDR o que es un candidato que tiene riesgo o es susceptible a una infección bacteriana MDR.

30 En realizaciones particulares, la invención puede proporcionar el tratamiento de infecciones respiratorias, p. ej. fibrosis quística, neumonía, COPD, COAD, COAP, bacteriemia, septicemia, choque séptico, sepsis, meningitis o envenenamiento por toxinas derivadas de modo bacteriano.

Una infección bacteriana MDR se puede encontrar en cualquier sujeto pero algunos sujetos serán más susceptibles a la infección que otros. Los sujetos que son susceptibles a la infección bacteriana MDR incluyen, pero sin limitar a sujetos cuya barrera epitelial y/o endotelial está debilitada o comprometida, sujetos cuyas defensas contra la 35 infección microbiana basada en secreción se ha anulado, alterado, debilitado u obstaculizado, y sujetos que son inmunocomprometidos, inmunodeficientes o inmunodeprimidos (es decir, un sujeto en el que cualquier parte del sistema inmunitario no funciona normalmente, o funciona por debajo de lo normal, en otras palabras, en el que cualquier parte de la respuesta inmunitaria, o una actividad inmunitaria, están reducida o deteriorada, sea debido a enfermedad o a intervención clínica u otro tratamiento, o de cualquier forma).

40 Los ejemplos representativos de sujetos que son susceptibles a la infección bacteriana MDR incluyen, pero sin limitar a sujetos con una infección previamente establecida (p. ej., con bacterias, virus, hongos o parásitos tales como protozoos), en especial sujetos con VIH, sujetos con bacteriemia, septicemia y sujetos con choque séptico; sujetos con inmunodeficiencia, p. ej. sujetos que se preparan para, se someten a o se recuperan de quimioterapia y/o radioterapia, sujetos con trasplante de órganos (p. ej., médula ósea, hígado, pulmón, corazón, válvula cardiaca, 45 riñón, etc.) (incluyendo pacientes de autoinjerto, aloinjerto y xenoinjerto); sujetos con SIDA; sujetos que residen en una institución sanitaria, p. ej. hospital, en especial sujetos en cuidados intensivos o cuidados críticos (es decir, aquellas unidades relacionadas con sistemas de reanimación cardiopulmonar o mantenimiento de órganos en pacientes); sujetos con respiradores; sujetos que padecen un traumatismo; sujetos con quemaduras, sujetos con heridas agudas y/o crónicas; sujetos neonatales; sujetos ancianos; sujetos con cáncer (definido de forma amplia en la presente memoria para incluir cualquier afección neoplásica; maligna o no maligna), en especial los que tienen 50 cánceres del sistema inmunitario (p. ej. leucemias, linfomas y otros cánceres hematológicos); sujetos que padecen afecciones autoinmunitarias tales como artritis reumatoide, diabetes mellitus de tipo I, enfermedad de Crohn, en especial los sometidos a tratamiento de inmunosupresión para estas enfermedades; sujetos con secreción epitelial o endotelial (p. ej. moco, lágrimas, saliva) y/o aclaración de la secreción reducida o anulada (p. ej. sujetos con mal funcionamiento de los cilios en el tejido de mucosa y/o pacientes con moco hiperviscoso (p. ej. fumadores y sujetos con COPD, COAD, COAP, bronquitis, fibrosis quística, enfisema, cáncer de pulmón, asma, neumonía o sinusitis) y 55 sujetos que tienen un dispositivo médico.

Las bacterias MDR se encuentran normalmente en instituciones sanitarias debido en parte a la cercanía de los

sujetos con infecciones bacterianas y el uso extendido de antibióticos. Por lo tanto, con frecuencia bacterias MDR, p. ej. las del género *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Providencia* y *Acinetobacter*, están implicadas en infecciones intrahospitalarias y por consiguiente la invención se puede ver como que proporciona tratamientos para infecciones MDR intrahospitalarias.

- 5 Por lo tanto, los sujetos en los que se pueden combatir en particular las infecciones MDR según la presente invención incluyen pacientes que están deteriorados sea debido a mala perfusión, traumatismo repetitivo, mala nutrición, mala oxigenación o disfunción de leucocitos.

De particular interés son los sujetos que han sufrido traumatismo físico. El propio traumatismo puede causar un debilitamiento o deterioro de una barrera epitelial y/o endotelial del sujeto o el sujeto puede volverse inmunocomprometido en respuesta al traumatismo (una respuesta de choque). El término "traumatismo" se refiere de forma amplia al ataque celular por cuerpos extraños y/o lesión física de las células. Entre los cuerpos extraños están incluidos microorganismos, materia en partículas, agentes químicos y similares. Entre las lesiones físicas están incluidas lesiones mecánicas; lesiones térmicas, tales como las resultantes de calor o frío excesivos; lesiones eléctricas, tales como las causadas por contacto con fuentes de potencial eléctrico; y daño por radiación causado, por ejemplo, por exposición extensa, prolongada a radiaciones infrarrojas, ultravioletas o ionizantes.

También son de particular interés los sujetos que tienen una quemadura. Cualquier quemadura, en particular una quemadura grave, tiene un impacto importante en la integridad de la barrera epitelial y/o endotelial del sujeto y a menudo el sujeto resultará inmunocomprometido en respuesta a la quemadura (una respuesta de choque).

Los agentes típicos que producen quemaduras son temperaturas extremas (p. ej. fuego y líquidos y gases a temperatura extrema), electricidad, productos químicos corrosivos, fricción y radiación. La extensión y duración de la exposición, junto con la intensidad/fuerza del agente, produce quemaduras de gravedad variable. Escaldarse (es decir, traumatismo asociado con líquidos y/o gases a alta temperatura) se considera que es una quemadura.

La gravedad de la quemadura epidérmica normalmente se clasifica de dos formas. La más común es la clasificación por el grado. Las quemaduras de primer grado normalmente se limitan a eritema (enrojecimiento) en la zona general de la lesión y una placa blanca en el sitio de la lesión. El traumatismo celular de estas quemaduras se extiende solo a la profundidad de la epidermis. Las quemaduras de segundo grado también presentan eritema en la zona general de la lesión pero con formación de ampollas superficial de la epidermis. El traumatismo celular de las quemaduras de segundo grado implica la dermis superficial (papilar) y también pueden implicar la capa de dermis profunda (reticular). Las quemaduras de tercer grado son aquellas en las que se pierde la epidermis con daño de la hipodermis. El daño típicamente es extremo incluyendo carbonización. A veces estará presente escara (tejido necrótico negro, seco). Las quemaduras de tercer grado pueden requerir injerto. En las quemaduras de cuarto grado se produce daño catastrófico de la hipodermis, p. ej. se pierde completamente la hipodermis, con daño que se extiende al músculo, tendón y tejido de ligamento subyacente. Se observa carbonización y escara. Se requiere injerto si la quemadura no muestra ser mortal.

Otro sistema de clasificación común es la clasificación por el grosor. Las quemaduras de "grosor superficial" corresponden a quemaduras de primer grado. El espectro de quemaduras de segundo grado está cubierto por dos clases de quemaduras de "grosor parcial". De "grosor parcial superficial" son quemaduras que afectan solo a la epidermis hasta la dermis papilar. De "grosor parcial profundo" son quemaduras que afectan a la dermis hasta la dermis reticular. Quemaduras de "grosor completo" corresponden a quemaduras de tercer y cuarto grado.

Algunas lesiones físicas, p. ej., algunas quemaduras y ataques celulares por cuerpos extraños dan como resultado la formación de una herida. Más específicamente, una herida se puede considerar que es una fisura o desolladura de un tejido. Las heridas también pueden ser causadas por una lesión que se forma espontáneamente tal como una úlcera de la piel (p. ej. úlcera venosa, diabética o úlcera de presión, una fisura anal o una úlcera en la boca).

Las heridas se definen típicamente como agudas o crónicas. Las heridas agudas son heridas que avanzan de forma ordenada a través de tres etapas reconocidas del proceso de curación (es decir, la etapa inflamatoria, la etapa proliferativa y la fase de remodelación) sin un transcurso de tiempo prolongado. Sin embargo, las heridas crónicas, son aquellas heridas que no completan la secuencia ordenada de sucesos bioquímicos del proceso de curación porque la herida se ha detenido en la fase inflamatoria. De acuerdo con un aspecto particular de la presente invención, una herida crónica es una herida que no ha curado en el espacio de al menos 40 días, en particular al menos 50 días, más en particular al menos 60 días, lo más en particular al menos 70 días.

Como se ha discutido anteriormente, las heridas son un entorno ideal para una infección bacteriana MDR, en particular la infección crónica, debido a la falta de una barrera epitelial y a la disponibilidad de sustrato y superficie para la unión y colonización microbiana. De manera problemática, la infección de una herida a menudo retrasa la curación más y esto hace a la herida más susceptible a la infección establecida. Por lo tanto, los métodos de la invención son eficaces en el tratamiento y prevención de la infección bacteriana MDR de heridas y el uso de los métodos de la invención en el tratamiento de heridas, en especial heridas crónicas, representa un aspecto preferido de la presente invención.

Por consiguiente, en una realización de la invención, se proporciona un oligómero de alginato para usar junto con (o

en combinación o en conjunto con) un antibiótico en el tratamiento o prevención de la infección de un sujeto por una bacteria MDR, en donde la bacteria es resistente al antibiótico, en particular infección crónica por una bacteria MDR en los sujetos mencionados anteriormente, en particular en sujeto con enfermedades o trastornos respiratorios, p. ej. fibrosis quística, COPD, COAD, COAP, neumonía, heridas, quemaduras y/o traumatismos.

5 Mediante la capacidad de tratar y prevenir la infección de heridas por una bacteria MDR, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención, como se definen en la presente memoria, pueden eliminar uno de los obstáculos para la curación de heridas y por lo tanto, los oligómeros de alginato y antibióticos definidos anteriormente también son eficaces en promover la curación de heridas agudas y crónicas infectadas con o con riesgo de infección con una bacteria MDR que es resistente a cualquiera de dichos antibióticos.

10 Por promover la curación se entiende que el tratamiento acelera el proceso de curación de la herida en cuestión (es decir, el avance de la herida a través de las tres etapas reconocidas del proceso de curación). La aceleración del proceso de duración se puede poner de manifiesto como un aumento de la velocidad de avance a través una, dos o todas las etapas de curación (es decir, la etapa inflamatoria, la etapa proliferativa y/o la fase de remodelación). Si la herida es una herida crónica que está detenida en una de las etapas de curación, la aceleración se puede poner de manifiesto como el reinicio del proceso de curación secuencial lineal después de la detención. En otras palabras, el tratamiento desplaza la herida de un estado de no curación a un estado donde la herida empieza a avanzar por las etapas de curación. El avance después del reinicio puede ser a una velocidad normal o incluso más lenta comparado con la velocidad a la que se curaría una herida aguda normal.

20 Los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden usar juntos (o en combinación o en conjunto) para tratar o prevenir infecciones bacterianas MDR donde quiera que se encuentren en o sobre el cuerpo. Por lo tanto, en otra realización, la infección puede ser una infección de un dispositivo médico por una bacteria MDR, en particular un dispositivo médico permanente, p. ej. tubos endotraqueales y de traqueotomía.

25 Los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden usar juntos (o en combinación o en conjunto) como agentes para el cuidado de la salud oral, por ejemplo en el control de placa dental, p. ej. para reducirla o prevenirla, reducir o retrasar su desarrollo al inhibir el crecimiento de bacterias de placa MDR en los dientes o prótesis dentales/orales. Los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención también se pueden usar juntos (o en combinación o en conjunto) en el tratamiento y prevención de infecciones MDR o enfermedad infecciosa MDR que se puede encontrar en la cavidad oral, por ejemplo, gingivitis y periodontitis.

30 De forma conveniente, los oligómeros de alginato y/o antibióticos se pueden aplicar mediante cualquier sistema de suministro de salud oral/higiene oral. Esto puede ser mediante el uso de pastas de dientes, geles dentales, espumas dentales, enjuagues dentales. Las dentaduras extraíbles y otras prótesis dentales extraíbles se pueden tratar fuera de la cavidad oral con la misma composición u otras composiciones farmacéuticamente aceptables. Los oligómeros de alginato y/o antibióticos también se pueden incorporar en composiciones que se aplican a la cavidad oral (o se aplican a las dentaduras extraíbles y otras prótesis dentales extraíbles fuera de la cavidad oral) para formar un recubrimiento que persiste sobre las superficies a lo largo del tiempo, o que ligera los oligómeros de alginato y/o antibióticos de las superficies recubiertas a lo largo del tiempo, y que inhibe el crecimiento de bacterias MDR en la cavidad oral y sobre superficies de dentaduras extraíbles y otras prótesis dentales extraíbles.

40 Aunque el tratamiento de las infecciones bacterianas MDR de los pulmones y vías respiratorias y todas las zonas del cuerpo está cubierto en general por la presente invención, en una realización, los usos médicos de la invención no se dirigen al tratamiento de (i) infecciones en las vías respiratorias, p. ej. en pacientes que padecen COPD (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), en particular los senos nasales y los pulmones, en particular en el tratamiento de fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, bronquitis y sinusitis; (ii) en el oído medio de pacientes que padecen otitis media adhesiva; o (iii) en el aparato reproductor de pacientes femeninas con fertilidad deteriorada; o (iv) en el tracto digestivo de pacientes con mal funcionamiento del tacto digestivo (p. ej. estreñimiento).

50 En realizaciones específicas de la invención, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden usar juntos (o en combinación o en conjunto) en el tratamiento o prevención de la endocarditis valvular nativa, otitis media aguda, prostatitis bacteriana crónica, neumonía (en particular neumonía asociada con respirador) asociados con bacterias MDR; enfermedades respiratorias asociadas con bacterias MDR (que pueden incluir COPD, COAD, COAP, neumonía, fibrosis quística y asma); e infecciones bacterianas MDR relacionadas con dispositivo asociadas con dispositivos médicos implantables o protésicos (p. ej. endocarditis valvular protésica o la infección de tubos y catéteres o articulaciones artificiales o sustituciones de tejidos o tubos endotraqueales o de traqueotomía).

55 En algunas realizaciones, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden usar juntos para controlar las infecciones MDR en el ojo, p. ej. para reducirlas, o prevenir, reducir o retrasar su desarrollo. En particular, el alginato y los antibióticos de la invención se usan juntos para tratar o prevenir la conjuntivitis bacteriana MDR y la queratoconjuntivitis seca (también llamada ojo seco) resultante, que puede producir el bloqueo de la glándula lacrimal.

Como se ha mencionado previamente, en algunas realizaciones, las infecciones bacterianas MDR anteriores y las

afecciones asociadas están en, o implican, biopelícula, en otras palabras son infecciones en biopelículas. En otras realizaciones, las infecciones bacterianas MDR anteriores y las afecciones asociadas no están o no implican biopelículas.

5 En un aspecto adicional la invención proporciona un método para combatir la contaminación de un sitio con bacterias MDR, comprendiendo dicho método poner en contacto el sitio y/o las bacterias MDR con (una cantidad eficaz de) un oligómero de alginato junto con (una cantidad eficaz de) al menos un antibiótico al que las bacterias son resistentes. Dicho método puede ser en particular un método in vitro, y el sitio puede ser cualquier superficie o ubicación discutida anteriormente.

10 “Combatir la contaminación” incluye medidas o tratamientos tanto preventivos como de reacción y por lo tanto cubre la prevención así como la reducción, limitación o eliminación de la contaminación.

15 Por “contaminación” se entiende la presencia no deseada de una bacteria (p. ej. una bacteria MDR) en un sitio o ubicación particular. La contaminación se puede considerar que cubre la colonización de una ubicación por una bacteria (p. ej. una bacteria MDR), es decir el establecimiento de una bacteria (p. ej. una bacteria MDR) en una ubicación y la expansión de la cantidad de este organismo por replicación o por reclutamiento de bacterias adicionales, que pueden ser del mismo o diferente tipo. En una realización, el proceso de colonización no implicará la formación de una biopelícula.

20 El sitio o ubicación de la contaminación o potencial contaminación no está restringido y puede ser cualquiera de los diferentes sitios o ubicaciones descritos o mencionados anteriormente, p. ej., puede ser in vitro o in vivo, pero en particular en este aspecto de la invención será un sitio o ubicación “in vitro” o “ex vivo” (p. ej. un sitio o ubicación inanimado o abiótico). Sin embargo, el sitio o ubicación puede ser en un sujeto y en dicho caso se administran al sujeto cantidades farmacéuticamente eficaces del oligómero de alginato y el antibiótico.

25 En una realización particular, los diferentes aspectos de la invención se pueden aplicar a la descontaminación de materiales de desecho clínicos, científicos e industriales. En otra realización particular, los diferentes aspectos de la invención se pueden usar para descontaminar tejido trasplantado (p. ej. corazón, pulmones, riñón, hígado, válvula cardiaca, páncreas, intestino, tejido corneal, injertos arteriales y venosos y piel) y dispositivos médicos (p. ej. tubos endotraqueales o de traqueotomía) antes de la implantación. En otra realización, los diferentes aspectos de la invención se puede considerar que cubren el uso de oligómeros de alginato junto con antibióticos como agentes conservantes anti-bacterias MDR en materiales, en especial en disoluciones y líquidos.

30 En otra realización, los métodos de la invención pueden comprender además una etapa en la que se determinará si la bacteria a la que se dirige está en, o está implicada en una biopelícula.

35 En otras realizaciones de los métodos de la invención, los métodos pueden comprender la etapa en la que se determina (p. ej. averigua o identifica) que la bacteria es resistente a un antibiótico o antibióticos particulares. En una etapa en lugar de, o además de la etapa descrita previamente, puede haber una etapa en la que se determina que la bacteria es una bacteria MDR. Aquí se puede usar cualquier ensayo conveniente, por ejemplo, los descritos anteriormente, cualquier técnica para identificar bacterias conocidas y caracterizadas (p. ej., bacterias ya identificadas como que son multirresistentes a antibióticos y/o fármacos). En una etapa adicional, se puede averiguar si una resistencia particular es o no es adquirida o intrínseca, p. ej. por comparación con bacterias típicas o naturales de la misma especie.

40 En cualquiera de los aspectos, usos o métodos de la invención, las bacterias MDR y el antibiótico pueden ser cualquiera de las bacterias y antibióticos definidos anteriormente y en especial cualquiera, o combinaciones de los mismos, expuestos como preferidos. Además, por ejemplo, las bacterias MDR pueden ser un organismo Burkholderia, p. ej. *Burkholderia cepacia*. Además, el antibiótico puede ser un macrólido, p. ej. azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina o espiramicina.

45 La expresión “poner en contacto” abarca cualquier medio de suministro del oligómero de alginato y el antibiótico a la bacteria MDR, sea directa o indirectamente, y por lo tanto cualquier medio de aplicación del oligómero de alginato y el antibiótico a la bacteria MDR, o la exposición de la bacteria MDR al oligómero de alginato y el antibiótico, p. ej. aplicando el oligómero de alginato y el antibiótico directamente a la bacteria MDR o administrando el oligómero de alginato y el antibiótico a un sujeto dentro del cual o sobre el cual está presente la bacteria MDR, p. ej. un sujeto infectado por una bacteria MDR.

50 Más en particular, la bacteria MDR se pondrá en contacto con una cantidad eficaz del oligómero de alginato y el antibiótico, más en particular una cantidad del oligómero de alginato y una cantidad del antibiótico que juntos (o en combinación o en conjunto) superen la resistencia de la bacteria MDR al antibiótico y por lo tanto inhiban la viabilidad y/o crecimiento de la bacteria MDR y por lo tanto trate o prevenga la infección/contaminación.

55 Una “cantidad eficaz” del oligómero de alginato y el antibiótico es la cantidad de oligómero de alginato y la cantidad del antibiótico que juntos (o en combinación o en conjunto) proporcionan la reducción medible de la resistencia (o aumento medible de susceptibilidad o disminución medible de tolerancia) al antibiótico, presentada por la bacteria (p. ej. usando los indicadores de resistencia descritos anteriormente). En algunas realizaciones, la “cantidad eficaz” del

oligómero de alginato y el antibiótico es la cantidad del oligómero de alginato y la cantidad del antibiótico que juntos (o en combinación o en conjunto) proporcionan la inhibición medible del crecimiento de una bacteria MDR, o población de la misma, a la que va dirigida, p. ej. que es resistente al antibiótico.

5 Una cantidad “farmacéuticamente eficaz” del oligómero de alginato y el antibiótico es la cantidad de oligómero de alginato y la cantidad del antibiótico que juntos (o en combinación o en conjunto) proporcionan una reducción medible de la resistencia (o aumento medible de susceptibilidad o disminución medible de tolerancia) al antibiótico, presentada por la bacteria MDR (p. ej. usando los indicadores de resistencia descritos anteriormente) en un sujeto y/o un tratamiento o prevención medible de la infección por una bacteria MDR a la que se dirige.

10 El experto en la técnica podrá determinar fácilmente que será una cantidad eficaz/farmacéuticamente eficaz de oligómero de alginato y antibiótico basándose en los protocolos de respuesta a la dosis rutinarios y, de forma conveniente, las técnicas rutinarias para evaluar la inhibición de crecimiento microbiano, etc., como se discute más adelante. El experto también podrá, sin excesivo trabajo, optimizar estas cantidades para maximizar los efectos combinatorios del oligómero de alginato y el antibiótico en su sistema objetivo.

15 Por “crecimiento de una bacteria MDR” se entiende tanto un aumento del tamaño de la bacteria MDR o de la cantidad y/o volumen de los constituyentes de una bacteria MDR (p. ej. la cantidad de ácido nucleico, la cantidad de proteína, el número de núcleos, el número o tamaño de orgánulos, el volumen del citoplasma) y un aumento del número de las bacterias MDR, es decir, un aumento de la replicación de la bacteria MDR.

20 Típicamente, el crecimiento de una bacteria MDR va acompañado del agrandamiento del organismo. El crecimiento de las bacterias MDR se puede medir con técnicas rutinarias. Por ejemplo, se pueden usar el examen microscópico o la morfología del microorganismo a lo largo del tiempo, o ensayos para medir los cambios en las cantidades de proteína o ácido nucleico (p. ej. ADN) en general, o los cambios en las cantidades de proteínas específicas o ácidos nucleicos. El experto en la técnica podrá seleccionar fácilmente marcadores adecuados para el seguimiento. De forma conveniente, se pueden controlar los llamados genes de mantenimiento (p. ej.  $\beta$ -actina, GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa), SDHA (succinato deshidrogenasa), HPRT1 (hipoxantina-fosforibosil transferasa 1), HBS1L (proteína similar a HBS1), AHSP (proteína estabilizadora de alfa-hemoglobina), y  $\beta$ 2M (beta-2-microglobulina)), ARN 16S y genes víricos, y sus productos de expresión.

25 Por “replicación de una bacteria MDR” o “replicación de una bacteria” se entiende el acto por el cual la bacteria (MDR) se reproduce. Típicamente, esto es por fisión binaria donde un microorganismo se divide en dos. Para apoyar la división del microorganismo en dos, normalmente la fisión binaria está precedida del agrandamiento del microorganismo que se divide y de un aumento de la cantidad y/o volumen de los constituyentes celulares. La replicación produce el aumento del número de células y por lo tanto se puede seguir por cualquier método de evaluación del número de microorganismos en una población. Otra opción es seguir el procedimiento en tiempo real por examen visual con un microscopio. El tiempo que tarda el microorganismo en replicarse (es decir, producir otra versión de sí mismo) es el tiempo de generación. El tiempo de generación dependerá de las condiciones en las que se encuentre la bacteria (MDR). La velocidad de replicación se puede expresar en términos de tiempo de generación.

30 Por “inhibición del crecimiento de una bacteria MDR” o “inhibición del crecimiento de una bacteria” se entiende que se reduce el crecimiento medible (p. ej. replicación) de una bacteria (MDR), o la velocidad del mismo. Preferiblemente, el crecimiento medible (p. ej. replicación) de una bacteria (MDR), o la velocidad del mismo, se reduce en al menos 50%, más preferiblemente al menos 60%, 70%, 80% o 90%, p. ej. al menos 95%. Preferiblemente, el crecimiento medible (p. ej. replicación) cesa. El crecimiento en términos de aumento o expansión del tamaño microbiano etc., se puede inhibir independientemente de la replicación y viceversa.

35 Las dosis adecuadas del oligómero de alginato y el antibiótico variarán de un sujeto a otro sujeto y las puede determinar el médico o veterinario de acuerdo con el peso, edad y sexo del sujeto, la gravedad de la afección, el modo de administración y también el oligómero de alginato particular o antibiótico seleccionado. Típicamente los oligómeros de alginato de la invención se aplicarán en el sitio que recibe tratamiento con una concentración local de al menos 0,5%, preferiblemente al menos 2% o al menos 4%, más preferiblemente al menos 6% y lo más preferiblemente al menos 10% en peso por volumen. Típicamente, el antibiótico de la invención se aplicará en el sitio que recibe tratamiento con una concentración local de al menos 1  $\mu$ g/ml, preferiblemente al menos 4, al menos 8, al menos 16, al menos 32, al menos 64, al menos 128, al menos 256 o al menos 512, 1024, 2048 o 4096  $\mu$ g/ml.

40 “Tratamiento” cuando se usa en relación con el tratamiento de una afección médica/infección en un sujeto de acuerdo con la invención, se usa de forma amplia en la presente memoria para incluir cualquier efecto terapéutico, es decir, cualquier efecto beneficioso en la afección o en relación con la infección. Por lo tanto, no solo está incluida la erradicación o eliminación de la infección, o cura del sujeto o infección, sino también una mejora en la infección o afección del sujeto. Por lo tanto está incluido, por ejemplo, una mejora de cualquier síntoma o signo de la infección o afección, o en cualquier indicador de la infección/afección clínicamente aceptado (por ejemplo, una disminución del tamaño de la herida o una aceleración del tiempo de curación). Por lo tanto, tratamiento incluye tanto la terapia curativa como paliativa, p. ej. de una infección/afección previamente existente o diagnosticada, es decir, un tratamiento de reacción.

- “Prevención” como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier efecto profiláctico o preventivo. Incluye, por lo tanto, el retraso, limitación, reducción o prevención de la afección (cuya referencia incluye infección o contaminación, cuando sea aplicable, en los diferentes aspectos de la invención) o el inicio de la afección, o uno o más síntomas o indicaciones de la misma, por ejemplo, en relación con la afección o síntoma o indicación antes del tratamiento profiláctico. Por lo tanto, la profilaxis incluye explícitamente tanto la prevención absoluta de la aparición o el desarrollo de la afección, o síntoma o indicación de la misma, como cualquier retraso en la aparición o desarrollo de la afección, o síntoma o indicación, o reducción o limitación en el desarrollo o avance de la afección o síntoma o indicación.
- Específicamente, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden considerar juntos (o en combinación o en conjunto) como un tratamiento profiláctico, por ejemplo, para prevenir o al menos minimizar el riesgo de infección o contaminación por una bacteria MDR resistente al antibiótico.
- El aspecto de la invención relativo a combatir (tratar o prevenir) la infección por una bacteria MDR es de particular utilidad en el cuidado de pacientes hospitalizados, ya que se puede minimizar el riesgo de contraer una infección intrahospitalaria (conocida normalmente como infección relacionada con/adquirida en el hospital o infección asociada con asistencia sanitaria) por una bacteria MDR, con un régimen profiláctico de los oligómeros de alginato y antibióticos definidos en la presente memoria. Este aspecto de la invención también tiene una utilidad particular en el cuidado de sujetos que padecen traumatismo, sujetos con una quemadura y sujetos con heridas, todos los cuales, como se ha discutido anteriormente, son más susceptibles de la infección por una bacteria MDR que un sujeto que no está afectado de forma similar.
- En general, se diagnosticará a los sujetos que necesitan tratamiento o profilaxis de acuerdo con la invención como que padecen o tienen riesgo de infección por una bacteria MDR, p. ej., se identificarán como que tienen o tienen riesgo de desarrollar una infección por una bacteria MDR.
- Específicamente, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden considerar juntos (o en combinación o en conjunto) como un tratamiento profiláctico para prevenir, o al menos minimizar el riesgo de desarrollar una infección por una bacteria MDR resistente al antibiótico o antibióticos elegidos, incluyendo por ejemplo, la infección de heridas por una bacteria MDR; endocarditis valvular nativa, otitis media aguda, prostatitis bacteriana crónica, asociados con bacterias MDR; infecciones de las vías respiratorias y pulmones por una bacteria MDR (p. ej., fibrosis quística, COPD, COAD, COAP, neumonía, u otras enfermedades respiratorias) o infección de un dispositivo médico (p. ej. permanente) por una bacteria MDR.
- La invención abarca el uso de un solo oligómero de alginato o una mezcla (multiplicidad/pluralidad) de diferentes oligómeros de alginato. Por lo tanto, por ejemplo, se puede usar una combinación de diferentes oligómeros de alginato (p. ej. dos o más).
- La invención abarca el uso de un solo antibiótico o una mezcla (multiplicidad/pluralidad) de diferentes antibióticos. Por lo tanto, por ejemplo, se puede usar una combinación de diferentes antibióticos (p. ej. dos o más). La bacteria MDR puede ser sensible al o a los antibióticos adicionales usados o puede ser resistente a al o a los antibióticos adicionales usados.
- En una realización ventajosa de la invención, los oligómeros de alginato y antibiótico se pueden usar en los métodos de la invención en conjunto o combinación con un agente antimicrobiano adicional (en lo sucesivo “agente antimicrobiano adicional”).
- En el contexto del uso médico, dicho agente antimicrobiano puede ser cualquier agente antimicrobiano clínicamente útil y en particular un antibiótico o un agente antivírico o antifúngico. En el contexto de los usos no clínicos, el agente antimicrobiano puede ser de nuevo cualquier agente antimicrobiano usado para dichos propósitos, p. ej. cualquier desinfectante o antiséptico o agente de limpieza o esterilización. Estos agentes se pueden usar por separado, o juntos en la misma composición, de forma simultánea o secuencia o separada, p. ej. en cualquier intervalo de tiempo deseado.
- Por lo tanto, a modo de ejemplo representativo, el agente antimicrobiano adicional se puede usar después del oligómero de alginato y/o el antibiótico, pero un uso precedente o simultáneo o intermedio puede ser beneficioso en algunas circunstancias.
- La elección del agente antimicrobiano tendrá que ser, por supuesto, adecuada para el sitio que recibe el tratamiento, pero se pueden usar, por ejemplo, agentes antimicrobianos, p. ej. antibióticos, antifúngicos, antivíricos, antisépticos y/o condiciones esterilizantes tales como irradiación (p. ej. UV, rayos X, gamma), extremos de temperatura y extremos de pH.
- Los antibióticos representativos incluyen los listaos anteriormente, en especial los expuestos como preferidos.
- Los antisépticos representativos incluyen, pero no se limitan a blanqueador de cloro (hipoclorito sódico), compuestos de amonio cuaternario (p. ej., cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio), peróxido de hidrógeno, compuesto fenólicos (p. ej., TCP), alcoholes (p. ej., etanol), Virkon™, compuestos de yodo

(p. ej., povidona-yodo), compuestos de plata (p. ej., nano/micropartículas de plata elemental).

Los tensioactivos antimicrobianos son otra clase de antisépticos. Estos son compuestos que alteran las membranas celulares microbianas y otros componentes estructurales y por lo tanto inhiben el crecimiento y/o viabilidad de microorganismos. Los tensioactivos antimicrobianos y su uso en composiciones antimicrobianas es bien conocido en la técnica, se encuentra una guía adicional de la discusión de tensioactivos antimicrobianos, si fuera necesaria, en "Preservative-free and self-preserving cosmetics and drugs Principles and practice", Ed. Kabara and Orth, Marcel Dekker, NY, NY, 1997, que se incorpora explícitamente por referencia en su totalidad. Los tensioactivos antimicrobianos pueden ser aniónicos, catiónicos, no iónicos o anfóteros. Los ejemplos de tensioactivos antimicrobianos aniónicos incluyen, pero no se limitan a dodecilsulfato sódico (laurilsulfato sódico), sal de sodio del ácido dodecilaminopropiónico, ricinoleato sódico, ácidos biliares, alquilarilsulfonatos, Grillosan DS7911, monetanol amidosulfosuccinato disódico ácido undecilénico. Los ejemplos de tensioactivos antimicrobianos catiónicos incluyen pero no se limitan a compuestos de amonio cuaternario, aminimidazoles y compuestos de clorhexidina. Los ejemplos de tensioactivos antimicrobianos no iónicos incluyen, pero no se limitan a monoésteres de ácidos grasos, gmonoésteres de polietilenglicol y ácidos alquildihidroxi benzoico, derivados de glucosamina y dietanolamidas de N-lauroil-dipéptidos. Los ejemplos de tensioactivos antimicrobianos anfóteros incluyen, pero no se limitan a alquilbetaínas, alquilamidopropilbetaínas, alquilaminopropionatos, alquiliminodipropionatos y alquilimidazolinazoles.

Los antifúngicos representativos incluyen, pero no se limitan a polienos (p. ej. natamicina, rimocidina, filipina, nistatina, amfotericina B, candicina; imidazoles (p. ej. miconazol, ketoconazol, clotrimazol, econazol, bifonazol, butoconazol, fenticonazol, isoconazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol); triazoles (p. ej. fluconazol, itraconazol, isavuconazol, ravuconazol, posaconazol, voriconazol, terconazol); alilaminas (p. ej. terbinafina, amorolfina, naftifina, butenafina); y equinocandinas (p. ej. anidulafungina, caspofungina, micafungina).

Los antiviricos representativos incluyen, pero no se limitan a abacavir, acyclovir, adefovir, amantadina, amprenavir, arbidol, atazanavir, atripla, boceprevir, cidofovir, combivir, darunavir, delavirdina, didanosina, docosanol, edoxudina, efavirenz, emtricitabina, enfuvirtida, entecavir, famciclovir, fomivirsén, fosamprenavir, foscarnet, fosfonet, ganciclovir, ibacitabina, imunovir, idoxuridina, imiquimod, indinavir, inosina, interferón de tipo III, interferón de tipo II, interferón de tipo I, lamivudina, lopinavir, lovirodina, maraviroc, moroxidina, nelfinavir, nevirapina, nexavir, oseltamivir, penciclovir, peramivir, pleconaril, podofilotoxina, raltegravir, ribavirina, rimantadina, ritonavir, saquinavir, stavudina, tenofovir, disoproxilo de tenofovir, tipranavir, trifluridina, trizivir, tromantadina, truvada, valaciclovir, valganciclovir, vicriviroc, vidarabina, viramidina, zalcitabina, zanamivir, y zidovudina.

El agente antimicrobiano adicional se puede aplicar de forma conveniente antes, simultáneamente con, después o entre el oligómero de alginato y/o el antibiótico. De forma conveniente el agente antimicrobiano adicional se aplica sustancialmente al mismo tiempo que el oligómero de alginato y/o el antibiótico o después. Por ejemplo, el agente antimicrobiano adicional se aplica al menos 1 h, preferiblemente al menos 3 h, más preferiblemente al menos 5 y los más preferiblemente al menos 6 h después de administrar el oligómero de alginato y/o el antibiótico. En otras realizaciones, el antimicrobiano adicional se puede aplicar o administrar de forma conveniente antes del oligómero de alginato y/o el antibiótico, p. ej., 1 h, al menos 3 h, al menos 6 h antes del oligómero de alginato y/o el antibiótico. En estas realizaciones el oligómero de alginato y/o el antibiótico se pueden aplicar o administrar con o sin una aplicación adicional del antimicrobiano adicional. Para optimizar el efecto antimicrobiano del agente antimicrobiano adicional, se puede dar (p. ej., administrar o suministrar) de forma repetida en tiempos adecuados para el agente usado. El experto en la técnica puede planificar una dosificación o régimen de uso adecuado. En los tratamientos a largo plazo, el oligómero de alginato y/o el antibiótico también se pueden usar de forma repetida. El oligómero de alginato se puede aplicar con tanta frecuencia como el antibiótico y/o el agente antimicrobiano adicional, pero típicamente se hará con menos frecuencia. La frecuencia requerida dependerá de la ubicación de la bacteria MDR, la composición de la colonia y el antimicrobiano usado, y el experto en la técnica puede optimizar la dosificación o patrones de uso para optimizar resultados.

En una realización ventajosa, el oligómero de alginato y/o el antibiótico se pueden usar o aplicar después de la eliminación física o reducción (p. ej., detección) de la colonia/población que comprende la bacteria MDR que causa la infección en el sitio que recibe el tratamiento.

Después de eliminar, o de un intento de eliminar, la colonia/población que comprende la bacteria MDR, el sitio se puede poner en contacto con el oligómero de alginato durante entre 0 y 24 h, en particular 2 y 12 h, más en particular 4 y 8 h, lo más en particular 5 y 7 h, p. ej., 6 h. Después de esto, se puede aplicar el antibiótico, y si se desea el agente antimicrobiano adicional. Dicho escenario puede ser deseable o aplicable en particular en un marco clínico. En el caso de heridas infectadas por una bacteria MDR, la duración de la incubación se puede diseñar de forma conveniente para que se corresponda con los cambios de apósito de la herida programados.

La eliminación física de la colonia/población que comprende la bacteria MDR se puede llevar a cabo con cualquier medio quirúrgico, mecánico o químico adecuado. De modo conveniente esto puede ser el uso de composiciones líquidas, de gel, gel-sol, semisólidas o gas aplicado a presión a la colonia/población, ultrasonidos, láser, o mediante herramienta abrasiva. Una composición usada en la propia eliminación o como una disolución de lavado antes, durante o después, puede contener de forma conveniente el oligómero de alginato y/o el antibiótico.



Por consiguiente, en una realización específica se proporciona una composición de detersión o lavado, p. ej. disolución para heridas que contiene un oligómero de alginato, en particular cualquier oligómero de alginato como se define en la presente memoria, y/o un antibiótico, en particular cualquier antibiótico como se define en la presente memoria (p. ej. un macrólido, preferiblemente seleccionado de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina o espiramicina), para usar en los tratamientos y métodos de la invención. Dicha composición de detersión típicamente será una disolución estéril, en particular una disolución acuosa estéril o una disolución estéril basada en aceite, y adicionalmente puede contener enzimas de proteólisis (p. ej. colagenasa, tripsina, pepsina, elastasa), una fase sólida abrasiva (p. ej., sílice coloidal, piedra pómez molida, cáscara vegetal o animal molida).

El uso de los oligómeros de alginato y el antibiótico en combinación o en conjunto con agentes inmunoestimuladores también puede ser beneficioso en la aplicación de los métodos de la invención en una situación clínica. Estos agentes inmunoestimuladores se pueden usar de forma conveniente en tiempos que corresponden con los descritos antes en relación con los agentes antimicrobianos y se pueden usar opcionalmente en combinación con un oligómero de alginato y/o el antibiótico y/o un agente antimicrobiano adicional. Los agentes inmunoestimuladores adecuados incluyen, pero no se limitan a citoquinas, p. ej. TNF, IL-1, IL-6, IL-8 y alginatos inmunoestimuladores, tales como alginatos con alto contenido de M, como se describe, por ejemplo en los documentos US 5.169.840, WO91/11205 y WO03/045402 que se incorporan explícitamente por referencia en la presente memoria en su totalidad, pero incluyen cualquier alginato con propiedades inmunoestimuladoras.

El uso de oligómeros de alginato y el antibiótico en combinación o en conjunto con factores de crecimiento, p. ej. PDGF, FGF, EGF, TGF, hGF y enzimas, también puede ser beneficioso en los usos médicos de la invención. Los ejemplos representativos de enzimas adecuadas incluyen, pero no se limitan a proteasas, p. ej. serina proteasas, metalproteasas y cisteína proteasas (los ejemplos de estos tipos de proteasas se listan en el documento EP0590746, cuyos contenidos completos se incorporan en la presente memoria por referencia); nucleasas, p. ej. DNasa I y II, RNasa A, H, I, II, III, P, PhyM, R; lipasas y enzimas capaces de degradar polisacáridos.

El uso de oligómeros de alginato y el antibiótico en combinación o en conjunto con un agente de reducción de la viscosidad de la mucosa fisiológicamente tolerable, también puede ser beneficioso, p. ej. una enzima de escisión de ácido nucleico (p. ej., una DNasa tal como DNasa I), gelsolina, un agente reductor de tiol, una acetilcisteína, cloruro sódico, un polisacárido de bajo peso molecular no cargado (p. ej., dextrano), arginina (u otros precursores de óxido nítrico o estimuladores de síntesis), o un poliaminoácido aniónico (p. ej., poliASP o poliGLU). Ambroxol, romhexina, carbocisteína, domiodol, eprazinona, erdoesteina, letosteina, mesna, neltexina, sobrerol, estepronina, tiopronina son mucolíticos específicos de interés.

El uso de oligómeros de alginato y el antibiótico en combinación o en conjunto con bloqueadores alga también puede ser beneficioso en los usos médicos de la invención, en especial en el tratamiento de prostatitis bacteriana crónica. Los ejemplos representativos de bloqueadores alfa adecuados incluyen, pero no se limitan a los bloqueadores alfa-1 selectivos (p. ej. doxazosina, dilodosina, prazosina, tamsulosina, alfuzosina, terazosina), y los bloqueadores adrenérgicos no selectivos (p. ej. fenoxibenzamina, fentolamina).

El uso de oligómeros de alginato y el antibiótico en combinación o en conjunto con broncodilatadores también puede ser beneficioso en los usos médicos de la invención, en especial en el tratamiento de enfermedades respiratorias asociadas con bacterias MDR (que pueden incluir COPD, COAD, COAP, neumonía, fibrosis quística, enfisema y asma). Los ejemplos representativos de broncodilatadores adecuados incluyen, pero no se limitan a agonistas de  $\beta_2$  (p. ej. pirbuterol, epinefrina, salbutamol, salmeterol, levosalbutamol, clenbuterol), anticolinérgicos (p. ej. ipratropio, oxitropio, tiotropio) y teofilina.

El uso de oligómeros de alginato y el antibiótico en combinación o en conjunto con corticosteroides también puede ser beneficioso en los usos médicos de la invención, en especial en el tratamiento de enfermedades respiratorias asociadas con bacterias MDR (que pueden incluir COPD, COAD, COAP, neumonía, fibrosis quística, enfisema y asma). Los ejemplos representativos de corticosteroides adecuados incluyen, pero no se limitan a prednisona, flunisolida, triamcinolona, fluticasona, budesonida, mometasona, beclometasona, amcinonida, budesonida, desonida, fluciclonida, fluciclonolona, halcinonida, hidrocortisona, cortisona, tixocortol, prednisolona, metilprednisolona, prednisona, betametasona, dexametasona, flucortolona, aclometasona, prednicarbata, clobetasona, clobetasol y fluprednido.

Los oligómeros de alginato y el antibiótico se pueden usar opcionalmente con cualquier otro agente terapéuticamente activo que se desee usar, p. ej. un agente antimicrobiano, un agente antiinflamatorio (p. ej., antiinflamatorio esteroideo), un agente inmunoestimulador, un agente de reducción de la viscosidad de la mucosa, un inhibidor de crecimiento o una enzima o un bloqueador alfa, un broncodilatador o un corticoesteroide. El uso combinado de un oligómero de alginato y un antibiótico con un agente terapéuticamente activo adicional (p. ej., un agente antimicrobiano o agente antiinflamatorio, un agente inmunoestimulador, un agente de reducción de la viscosidad de la mucosa, un inhibidor de crecimiento o una enzima o un bloqueador alfa, un broncodilatador o un corticoesteroide) puede mejorar los efectos clínicos del agente activo y esto puede permitir ventajosamente reducir la dosis (p. ej., la dosis habitual o normal) del agente terapéuticamente activo adicional, p. ej. se puede usar con su dosis normal o habitual, o con una dosis menor, por ejemplo hasta 50% (o el 50%) de su dosis normal.

En el caso de uso médico, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden administrar al sujeto en cualquier forma conveniente o por cualquier medio conveniente, p. ej. por vía tópica, oral, parenteral, enteral, parenteral, o por inhalación. Preferiblemente, el alginato y los antibióticos se administrarán por vías tópica, oral o parenteral o por inhalación. No es necesario que los oligómeros de alginato y antibióticos estén en la misma composición, y no es necesario que se administren por la misma vía.

El experto en la técnica podrá formular los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención en composiciones farmacéuticas que están adaptadas para esas vías de administración de acuerdo con cualquiera de los métodos convencionales conocidos en la técnica y descritos ampliamente en la bibliografía.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para usar en cualquiera de los métodos o usos mencionados anteriormente, que comprende un oligómero de alginato como se define en la presente memoria junto con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Esta composición también puede comprender un antibiótico como se define en la presente memoria.

Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para usar en cualquiera de los métodos o usos mencionados anteriormente, que comprende un antibiótico como se define en la presente memoria junto con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Esta composición también puede comprender un oligómero de alginato como se define en la presente memoria.

La invención también proporciona productos (p. ej., un kit farmacéutico o un productos combinado ("combinación")) o composiciones (p. ej., una composición farmacéutica) en donde el producto o la composición comprenden un oligómero de alginato como se define en la presente memoria y un antibiótico, p. ej. seleccionado del grupo de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, troleandomicina, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, y trovafloxacina. Preferiblemente, el antibiótico se selecciona del grupo de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, oxitetraciclina, colistina, azitromicina y ciprofloxacina, preferiblemente es azitromicina. Por ejemplo, el antibiótico se puede seleccionar de amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, tilosina, troleandomicina, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, y trovafloxacina. En particular, el antibiótico se puede seleccionar de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, oxitetraciclina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina, y en particular se prefiere que el antibiótico se seleccione de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina. Más preferiblemente, el antibiótico se selecciona de aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina. En otras realizaciones, el antibiótico usado no es tobramicina, amikacina y/o colistina. En otras realizaciones, el antibiótico usado no es un aminoglucósido o un antibiótico polipéptido. En otras realizaciones el antibiótico usado no es un antibiótico que tenga una carga positiva en las condiciones en las que se usará con el oligómero de alginato, p. ej., antibióticos con al menos 3, p. ej., al menos 4, 5, 6 ó 7 grupos amino (-NH<sub>2</sub>). Estos productos y composiciones están específicamente contemplados para usar en los métodos de la invención. Los productos y composiciones pueden ser farmacéuticos o no farmacéuticos. Por lo tanto, los productos y composiciones de este aspecto de la invención se pueden usar en cualquiera de los métodos de la invención.

Como se ha discutido anteriormente, los oligómeros de alginato y antibióticos propuestos para usar según la invención, se pueden usar combinados unos con otros, por ejemplo, para administrar juntos, en una sola formulación o composición farmacéutica, o por separado (es decir, por administración separada, secuencial o simultánea). Por lo tanto, los oligómeros de alginato y antibióticos de la invención se pueden combinar, p. ej. en un kit farmacéutico o como un producto combinado ("combinación").

Así, como se ha indicado anteriormente, aspectos adicionales de la presente invención proporcionan productos que contienen un oligómero de alginato y un antibiótico como una preparación combinada para los usos definidos en la presente memoria. Dichos productos opcionalmente pueden contener un agente activo adicional.

El uso de oligómeros de alginato como se define en la presente memoria para fabricar dichos productos farmacéuticos y composiciones farmacéuticas para usar en los métodos médicos de la invención, también está contemplado.

También se pueden incorporar agentes activos adicionales. La discusión anterior y siguiente de agentes activos adicionales y excipientes y similares, se puede aplicar directamente en su totalidad a este aspecto de la invención.

El principio activo se puede incorporar, opcionalmente junto con otros agentes activos, con uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes convencionales, para producir preparaciones galénicas convencionales tales como comprimidos, píldoras, polvos (p. ej., polvos inhalables), pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), pulverizadores (p. ej., pulverizadores nasales), composiciones para usar en nebulizadores, pomadas, cápsulas de gelatina duras y blandas, supositorios, disoluciones estériles inyectables, polvos estériles envasados, y similares. Las composiciones estériles inhalables tienen interés particular para usar en el tratamiento de enfermedades respiratorias asociadas con bacterias MDR (que pueden incluir COPD, COAD, COAP, neumonía, fibrosis quística, enfisema y asma).

Los ejemplos de vehículos, excipientes y diluyentes adecuados son lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato cálcico, alginatos inertes, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, jarabe acuoso, agua, agua/etanol, agua/glicol, agua/polietileno, agua con sal hipertónica, glicol, propilenglicol, metilcelulosa, hidroxibenzoatos de metilo, hidroxibenzoatos de propilo, talco, estearato magnésico, aceite mineral o sustancias grasas, tales como grasa dura o mezclas adecuadas de los mismos. Los excipientes y diluyentes de interés son manitol y agua con sal hipertónica (disolución salina).

Las composiciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes de sabor y similares. Se pueden incluir agentes terapéuticamente activos adicionales en las composiciones farmacéuticas, como se ha discutido anteriormente en relación con las terapias de combinación anteriores.

En algunos casos puede ser beneficioso administrar los oligómeros de alginato y/o los antibióticos como se definen en la presente memoria a animales, p. ej., para promover la ganancia de peso/crecimiento. La administración se puede lograr en forma de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente, pero de forma conveniente los oligómeros de alginato y/o los antibióticos como se definen en la presente memoria se pueden usar como un aditivo de pienso convencional, es decir, un compuesto que se añade al pienso animal en cantidades pequeñas, nutricionalmente sin importancia. El uso de aditivos de piensos en los piensos animales está bien establecido y será totalmente rutinario para el experto en la técnica determinar y usar cantidades adecuadas de los alginatos de la invención para lograr los efectos deseados, p. ej. aumento de peso/crecimiento.

El contenido relativo del oligómero de alginato y el antibiótico puede variar dependiendo de la dosificación requerida y el régimen de dosificación que se va a seguir, y esto dependerá del sujeto que se va a tratar y el sitio e identidad de la bacteria MDR, y/o los constituyentes de la contaminación o población que comprenden la bacteria MDR. Preferiblemente, la composición comprenderá una cantidad del oligómero de alginato y una cantidad del antibiótico que proporcionarán una reducción medible de la resistencia (o aumento medible de susceptibilidad o disminución medible de tolerancia) al antibiótico, presentada por la bacteria p. ej. una cantidad de oligómero de alginato que será al menos el doble, al menos el cuádruple, al menos el óctuple, al menos 16 veces más o al menos 32 veces más la susceptibilidad de la bacteria MDR al antibiótico. Expresado de forma diferente, la composición comprenderá una cantidad de oligómero de alginato y una cantidad de antibiótico que proporcionarán un tratamiento medible de la infección a la que se dirige. Preferiblemente, la composición o el producto comprenderán suficiente oligómero de alginato que tras la administración a un sujeto o aplicación en un sitio, la concentración local del oligómero será al menos 2%, preferiblemente al menos 4%, 6% u 8% y lo más preferiblemente al menos 10% (peso por volumen). El antibiótico preferiblemente estará presente en una cantidad que es suficiente para proporcionar una concentración local de al menos 0,03125, 0,0625, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 64, 128, 256,512, 1024, 2048 o 4096 µg/ml. El experto en la técnica sabrá que las cantidades del oligómero de alginato y/o antibiótico se pueden reducir si se sigue un régimen de dosificación múltiple o aumentar para minimizar el número de administraciones o aplicaciones.

Las composiciones y productos de este aspecto, típicamente comprenderán entre 1% y 99%, 5% y 95%, 10% y 90% o 25% y 75% de oligómero de alginato, y entre 1% y 99%, 5% y 95%, 10% y 90% o 25% y 75% de antibiótico, permitiendo otros ingredientes.

Las formas administrables por vía parenteral, p. ej., disoluciones intravenosas deben ser estériles y exentas de agentes fisiológicamente aceptables, y deben tener osmolaridad baja para minimizar la irritación u otros efectos adversos tras administración, y por lo tanto las disoluciones preferiblemente deben ser isotónicas o ligeramente hipertónicas, agua con sal hipertónica (disolución salina). Los vehículos adecuados incluyen vehículos acuosos usados habitualmente para la administración de disoluciones parenterales tales como inyección de cloruro sódico, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de cloruro sódico, inyección de Ringer lactato y otras disoluciones tales como las descritas en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., pp. 1405-1412 and 1461-1487 (1975) y *The National Formulary XIV*, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association (1975). Las disoluciones pueden contener conservantes, agentes antimicrobianos, excipientes y otros aditivos que son compatibles con los biopolímeros y que no interferirán con la fabricación, almacenamiento o uso de los productos.

Para la administración típica, el oligómero de alginato y/o el antibiótico se pueden incorporar en cremas, pomadas, geles, parches transdérmicos y similares. Los oligómeros de alginato y/o el antibiótico también se pueden incorporar en apósitos médicos, por ejemplo apósitos de heridas, p. ej., apósitos tejidos (p. ej., telas) o apósitos no tejidos (p. ej., geles o apósitos con un componente de gel). El uso de polímeros de alginato en apósitos es conocido, y dichos

apósitos, o realmente cualquier apósito, puede incorporar además los oligómeros de alginato de la invención.

Por consiguiente, en una realización específica adicional, la invención proporciona además un apósito para herida que comprende un oligómero de alginato (que puede ser cualquier oligómero de alginato como se define en la presente memoria) y/o un antibiótico (que puede ser cualquier antibiótico como se define en la presente memoria) para usar, cuando sea adecuado, en los tratamientos y métodos de la invención.

Sistemas tópicos adicionales que se considera que son adecuados, son sistemas de suministro de fármacos in situ, por ejemplo geles donde se forman matrices sólidas, semisólidas, amorfas o de líquido cristalino in situ, y que pueden comprender el oligómero de alginato y/o el antibiótico. Dichas matrices se pueden diseñar de forma conveniente para controlar la liberación del oligómero de alginato y/o el antibiótico de la matriz, p. ej., la liberación puede ser retardada y/o sostenida a lo largo de un periodo de tiempo elegido. Dichos sistemas pueden formar geles solo tras el contacto con tejidos o fluidos biológicos. Típicamente, los geles son bioadhesivos. Se puede dirigir el suministro a cualquier sitio del cuerpo que pueda retener o se puede adaptar para que retenga la composición de pregel, mediante dicha técnica de suministro. Dichos sistemas se describen en el documento WO 2005/023176.

Para la aplicación a superficies orales, bucales y dentales, se mencionan específicamente pastas de dientes, geles dentales, espumas dentales y enjuagues bucales. Por lo tanto, en un aspecto particular está incluida una composición de cuidado oral o higiene oral, que comprende un oligómero de alginato y un antibiótico (que pueden ser cualquier oligómero de alginato o antibiótico como se definen en la presente memoria), en particular un enjuague bucal, pasta de dientes, gel dental o espuma dental para usar, cuando sea adecuado, en los tratamientos y métodos de la invención.

Las composiciones inhalables también son de interés. La formulación de composiciones adecuadas para inhalación es rutinaria para el experto en la técnica y ha sido una práctica estándar durante mucho tiempo en el tratamiento de enfermedades respiratorias. Las composiciones inhalables, por ejemplo, pueden tener forma de polvos, disoluciones o suspensiones inhalables. El experto en la técnica podrá seleccionar el tipo más adecuado de sistema de suministro para sus necesidades y podrá preparar una formulación adecuada de los alginatos y/o antibióticos de la invención para usar en ese sistema. Son particularmente preferidas las disoluciones nebulizables exentas de propulsor y las formulaciones de polvos inhalables.

Como se ha indicado antes, una composición preferida de la invención es una composición de detersión que se usa en un proceso de detersión para eliminar una colonia o población que comprende una bacteria MDR, por ejemplo de un tejido. Típicamente dicha composición será líquida, pero se pueden usar composiciones de geles, gel-soles o semisólidos. La composición se puede usar para la detersión de la colonia/población (p. ej., por aplicación al tejido bajo presión) y/o se puede usar para bañar el tejido antes, durante y/o después de la detersión por otros medios tales como procedimientos quirúrgicos, mecánicos o químicos. El experto en la técnica podrá formular fácilmente composiciones de detersión de acuerdo con la invención.

En el caso de una bacteria MDR sobre una superficie inanimada o en un material inanimado, el oligómero de alginato y/o antibiótico se pueden aplicar a la superficie o material que se va a tratar en cualquier composición o formulación convencional, o por cualquier medio conveniente. Por lo tanto, el oligómero de alginato y/o antibiótico puede estar en forma líquida, de gel, gel-sol, semisólida o sólida (p. ej., disoluciones, suspensiones, homogenatos, emulsiones, pastas, polvos, aerosoles, vapores). Típicamente, las composiciones para tratar dichas superficies inanimadas o materiales, será una composición farmacéuticamente no aceptable. La elección de la forma de la composición vendrá dictada por la identidad de la bacteria MDR sobre la superficie o en el material y la ubicación de la superficie o material. Por ejemplo, si la ubicación es un tubo de fluido puede ser conveniente aplicar una composición fluida. También puede ser preferido usar una composición que permanezca en la superficie o en la parte del tubo de fluido que se va a tratar, pero que no lixivie en el fluido de uso normal, p. ej., un gel adhesivo. El experto en la materia podrá preparar fácilmente composiciones a partir de su conocimiento general común. Por ejemplo, el oligómero de alginato y/o antibiótico se pueden añadir a una formulación de pintura y aplicar a la superficie que se va a tratar, p. ej., un casco de barco y otra parte de una estructura de barco que esté expuesta al agua, o a una construcción o cualquier parte del mismo, un depósito (p. ej., un depósito de almacenamiento o procesamiento) o realmente cualquier parte de cualquier maquinaria industrial. Dichas composiciones también pueden comprender de forma conveniente un agente antimicrobiano adicional, como se ha descrito anteriormente, p. ej., un antibiótico, blanqueador de cloro, TCP, etano, Virkon™, povidona-yodo, compuestos de plata, tensioactivos antimicrobianos, etc. Puesto que no es necesario que las composiciones sean farmacéuticamente aceptables, se pueden usar antimicrobianos más fuertes sujeto a la consideración del daño de la superficie, contaminación medioambiental, seguridad del usuario y contaminación de la superficie tratada e interacción con los otros componentes de la composición.

Las composiciones de la invención se pueden formular para que proporcionen liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo después de administración al sujeto/superficie usando procedimientos bien conocidos en la técnica. También se prefieren las composiciones adhesivas. Pueden ser particularmente convenientes las formulaciones adhesivas, de liberación sostenida y/o retardada

En un aspecto adicional, la invención proporciona productos susceptibles de contaminación/colonización por

bacterias MDR, cuyas superficies susceptibles se han tratado previamente con un oligómero de alginato y un antibiótico como se definen en la presente memoria.

Por “previamente tratado” se entiende que la superficie susceptible se expone a un oligómero de alginato y/o un antibiótico antes de una exposición a una bacteria MDR y que el oligómero de alginato y/o antibiótico persisten sobre la superficie durante un tiempo suficiente para prevenir la contaminación/colonización por una bacteria MDR durante un periodo de tiempo apreciable. Preferiblemente, el oligómero de alginato y/o antibiótico persistirán sustancialmente durante la vida útil de la superficie, p. ej., el tratamiento previo produce un recubrimiento sustancialmente permanente de un oligómero de alginato y/o un antibiótico. Por lo tanto, una superficie/producto previamente tratado es uno en el que se aplica el oligómero de alginato y/o antibiótico y en el que permanece. Dicho producto/superficie puede ser un producto/superficie recubierto.

Los ejemplos no limitantes de productos y superficies susceptibles de contaminación/colonización por bacterias MDR se han descrito anteriormente. Se puede mencionar en particular los dispositivos médicos (p. ej. tubos endotraqueales o de traqueotomía) y equipamiento de procesamiento, almacenamiento o dispensación de alimentos o bebidas. El tratamiento previo se puede lograr por cualquier medio conveniente, por ejemplo cualquier forma de aplicación del oligómero de alginato y/o antibiótico sobre la superficie, en especial recubrimiento de la superficie, p. ej., pulverización por atomización, recubrimiento polimérico con un polímero que incorpora el oligómero de alginato y/o antibiótico, y pintado, barnizado o lacado con formulaciones de pintura, barniz o laca que contienen el oligómero de alginato y/o antibiótico. Dicha composición de “recubrimiento” (p. ej., pintura, barniz o laca) que contiene un oligómero de alginato y/o antibiótico representa un aspecto adicional de la presente invención. Alternativamente, el oligómero de alginato y/o antibiótico se pueden incorporar en el material a partir del cual se fabrica el objeto o sus partes susceptibles. Este procedimiento es adecuado para objetos, o partes que constituyen el mismo, fabricados a partir de polímeros tales como plásticos y siliconas, p. ej. los dispositivos médicos y quirúrgico descritos anteriormente. Por lo tanto, están contemplados los productos que comprenden una superficie inanimada que comprende un recubrimiento o composición de recubrimiento de oligómero de alginato y/o antibiótico, o que incorporan un oligómero de alginato y/o antibiótico. Los ejemplos no limitantes de dichos productos y superficies se han descrito anteriormente. Son de particular interés los dispositivos médicos y quirúrgicos. Esto puede incluir cualquier clase de tubo, incluyendo catéteres (p. ej. catéteres venosos centrales y urinarios), dispositivos protésicos, p. ej. válvulas cardíacas, articulaciones artificiales, dientes falsos, coronas dentales, fundas dentales e implantes de tejido blando (p. ej., implantes de pecho, glúteos y labios). Está incluido cualquier clase de dispositivo médico implantable (o “permanente”) (p. ej., prótesis endovascular, dispositivos intrauterinos, marcapasos, tubos de intubación (p. ej., tubos endotraqueal o de traqueotomía), prótesis o dispositivos protésicos, tubos o catéteres). Otros productos incluyen equipamiento de procesamiento, almacenamiento, dispensación o preparación de alimentos, depósitos, transportadores, suelos, tubos de drenaje, refrigerantes, congeladores, superficies de equipamiento, paredes, válvulas, cintas, tuberías, conductos de aire acondicionado, aparatos de enfriamiento, tubos de dispensación de alimento o bebida, intercambiadores de calor, cascos de embarcaciones o cualquier parte de una estructura de embarcación que está expuesta al agua, conductos de agua dentales, conductos de perforación para petróleo, lentes de contacto y cajas de almacenamiento.

La invención se describirá con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

## EJEMPLOS

40 Ejemplo 1 – Efecto de oligómeros de alginato de bloques G en las concentraciones mínimas inhibitoras de diferentes antibióticos para diferentes cepas bacterianas

Materiales y métodos

Cepas bacterianas usadas:

- PA01 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692
- 45 • *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 39324, cepa de tipo mucoide (R79)\*
- *Pseudomonas aeruginosa* CFA 24-1, cepa mucoide clínica (R80)\*
- *Pseudomonas aeruginosa* MDR R22 de China (V1)\*
- *Pseudomonas aeruginosa* MDR 301 de Polonia (V2)\*
- *Klebsiella pneumoniae* KP05 506 de la India (V3)\*
- 50 • *Acinetobacter baumannii* MDR ACB de Libia (V4)\*

\*Designaciones no oficiales asignadas solo con propósitos de identificación internos.

Abreviaturas usadas: *Pseudomonas aeruginosa*, (PA); *Klebsiella pneumoniae* (KP); *Acinetobacter baumannii* (ACB)

Medios y cepas bacterianas usadas:

- 5 Después de recuperación del almacenamiento a -80°C, las colonias bacterianas se cultivaron en agar sangre con 5% de sangre de oveja y se usaron para inocular caldo de triptona de soja (TBS) durante el cultivo durante la noche. Se diluyeron antibióticos en caldo de Mueller-Hinton con ajuste de cationes (CAMHB) o CAMHB con fragmentos G (Oligo CF-5/20 90-95% de restos G) al 2%, 6% o 10%. Los antibióticos eran de calidad farmacéutica adquiridos en Sigma-Aldrich. Los fragmentos G OligoG CF-5/20 los proporcionaron Algipharma AS, Noruega.
- 10 Ensayo de concentración mínima inhibidora (Jorgensen et al.. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington. D.C: American Society for Microbiology. 1999; 1526-43):
- Los cultivos bacterianos de una noche como se han descrito anteriormente se diluyeron en agua estéril hasta que la DO625 estaba entre 0,08 y 0,10 para confirmar que la densidad celular era equivalente a 0,5 del patrón de McFarland.
- 15 En los experimentos con un solo antibiótico, se prepararon diluciones seriadas de 2 veces del antibiótico en CAMHB o CAMHB complementado con fragmentos G (Oligo CF-5/20 90-95% de restos G) al 0%, 2%, 6% o 10% y se pusieron en pocillos por duplicado de placas de microvaloración de 96 pocillos de fondo plano (100 µl en cada pocillo).
- En los experimentos con 2 antibióticos (ceftazidima y azitromicina o ciprofloxacina y azitromicina), se prepararon diluciones seriadas de 2 veces del antibiótico en CAMHB o CAMHB complementado con azitromicina 1, 2, 4 u 8 µg/ml y fragmentos G al 0%, 2%, 6% o 10% y se pusieron en pocillos por duplicado de placas de microvaloración de 96 pocillos de fondo plano (100 µl en cada pocillo).
- 20 Los cultivos bacterianos al 0,5 del patrón McFarland se diluyeron 10 veces en CAMHB y se añadieron 5 µl a las placas de microvaloración que contenían las diluciones seriadas del antibiótico. Las placas se envolvieron en Parafilm y se incubaron a 37°C durante 16-20 h. Los valores de la CMI para cada combinación de antibiótico/antibiótico se determinaron como la concentración más baja a la que no había crecimiento visible. Los resultados se muestran en las tablas 1, 2 y 3.

Tabla 1. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Acinetobacter baumannii* en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en µg.ml<sup>-1</sup>)

Antibiótico	PA01 PA	R79 Mucoide PA	R80 Mucoide PA	V1* MDR R22 PA (China)	V2* MDR 301 PA (Polonia)	V3* KP05 506 (India)	V4* ACB (Libia)
Oxitetraciclina	0G	8	8	ND	ND	ND	ND
	+2%G	4	4	8	8	8	8
	+6%G	4	4	4	4	4	4
	+10%G	4	2	4	4	4	4
Azitromicina	0G	128	128	64	64	32	8
	+2%G	64	64	64	64	16	2
	+6%G	16	16	64	32	16	0.25
	+10%G	4	4	32	16	8	0.25
Ciprofloxacina	0G	0.125	0.125	16	16	128	64
	+2%G	0.0625	0.0625	16	16	128	32
	+6%G	0.0625	0.03125	8	8	128	16
	+10%G	0.03125	0.03125	4	8	128	16
Primaxina (Imipenem/ cilastatina)	0G	<1	<1	128	512	32	<1
	+2%G	<1	<1	128	256	32	<1
	+6%G	<1	<1	64	256	32	<1
	+10%G	<1	<1	32	128	32	<1
Meropenem	0G	2	<1	32	64	32	<4
	+2%G	2	<1	32	32	32	<4
	+6%G	<1	<1	16	16	16	<4
	+10%G	<1	<1	4	4	4	<4
Ceftazidima	0G	<1	<1	128	32	>1024	512
	+2%G	<1	<1	64	16	>1024	512
	+6%G	<1	<1	32	8	>1024	512
	+10%G	<1	<1	8	4	>1024	256
Aztreonam	0G	8	2	32	64	2048	1024
	+2%G	4	2	16	16	2048	512
	+6%G	4	<1	<4	8	512	256
	+10%G	2	<1	<4	8	256	128

Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G

Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G



Tabla 2. Concentración mínima inhibidora (CMI) de azitromicina para una cepa MDR de *Acinetobacter baumannii* y diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%)

Antibiótico	PA01 PA	R79 Mucoide PA	R80 Mucoide PA	V1* MDR R22 PA (China)	V2* MDR 301 PA (Polonia)	V3* KP05 506 (India)	V4* ACB (Libia)
Azitromicina	128	128	256	64	64	32	8
+2%G	64	64	128	64	64	16	2
+6%G	16	16	64	64	32	16	<0.25
+10%G	4	4	8	32	16	8	<0.25



Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G  
 Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G



Tabla 3. Concentraciones mínimas inhibitoras (CMI) de dos antibióticos combinados entre sí (azitromicina con ceftazidima o ciprofloxacina) para cepas multirresistentes a fármacos (MDR) de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* en presencia de concentraciones variables de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Antibiótico		V1* MDR R22 PA (China)	V4* ACB (Libia)
Ceftazidima con azitromicina 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	256	512
	+2%G	128	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+6%G	32	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+10%G	16	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
Ceftazidima con azitromicina 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	128	1024
	+2%G	128	< 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+6%G	64	< 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+10%G	8	< 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
Ceftazidima con azitromicina 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	128	1024
	+2%G	64	256
	+6%G	32	2
	+10%G	16	< 1 Cf
Ceftazidima con azitromicina 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	128	1024
	+2%G	64	512
	+6%G	16	128
	+10%G	16	< 1 Cf
Ciprofloxacina con azitromicina 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	16	128
	+2%G	16	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+6%G	16	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+10%G	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az	< 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
Ciprofloxacina con azitromicina 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	16	128
	+2%G	16	64 Cpr, 4 Az
	+6%G	8	< 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
	+10%G	4	< 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Az
Ciprofloxacina con azitromicina 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	32	128
	+2%G	16	< 0,25 Cpr, 2 Az
	+6%G	16	< 0,25 Cpr
	+10%G	8	< 0,25 Cpr
Ciprofloxacina con azitromicina 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0G	16	64
	+2%G	16	32
	+6%G	8	< 0,25 Cpr
	+10%G	8	< 0,25 Cpr

5



Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G



Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G

### Resultados y discusión

En general, el tratamiento de cepas MDR con crecimiento planctónico de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii* con concentraciones crecientes de OligoG CF-5/20 disminuyeron los valores de CMI de los antibióticos usados (tablas 1 y 2). La oxitetraciclina, azitromicina y ciprofloxacina mostraron todos que tenían valores de CMI que disminuían con las cantidades crecientes de OligoG CF-5/20 usadas. Por lo tanto, en el caso de estos antibióticos, parece que los datos muestran que los oligómeros de alginato pueden potenciar sus efectos. Los antibióticos ensayados incluyen antibióticos comunes en el tratamiento de la fibrosis quística.

15

20

La magnitud del efecto era más pronunciada para la cepa MDR *Pseudomonas aeruginosa* R22, aunque todas las cepas estudiadas respondían al tratamiento con los oligómeros de alginato y azitromicina. Los resultados también muestran que los oligómeros de alginato potencian al antibiótico azitromicina con todas las cepas ensayadas. Dicho efecto se puede ver con la azitromicina sola o en combinación con otros antibióticos.

Más específicamente, para las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR, la primaxina (una combinación de imipenem y cilastatina), azitromicina, ceftazidima, ciprofloxacina y aztreonam, eran todos más eficaces cuando se usaban en combinación con oligómeros de alginato. Dos antibióticos en conjunto con oligómeros de alginato eran

más eficaces contra KP05 506, en concreto, azitromicina y aztreonam, pero los datos de los experimentos que usan primaxina y meropenem no son concluyentes. En combinación con oligómeros de alginato, la azitromicina, ceftazidima, ciprofloxacina y aztreonam mostraron un efecto más positivo sobre el aislado de *Acinetobacter baumannii*.

- 5 Se ensayaron los efectos de la azitromicina en conjunto con ceftazidima o ciprofloxacina en presencia de oligómeros de alginato, sobre la cepa MDR R22 PA y el aislado MDR de *Acinetobacter baumannii* y los resultados se pueden ver en la tabla 3. En todos los casos los valores de CMI de la ceftazidima o ciprofloxacina en las combinaciones de antibióticos se redujeron para diferentes concentraciones del oligómero de alginato.

Ejemplo 2

- 10 El estudio descrito en el ejemplo 1 se repitió con las siguientes cepas de bacterias y antibióticos como se detalla en las tablas 4, 5 y 6.

Cepas bacterianas

- PA01 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692 (E77)
- R79\* *Pseudomonas aeruginosa* mucoide ATCC 39324 Aislamiento: esputo de pacientes con fibrosis quística, Boston, MA
- 15 • R80\* *Pseudomonas aeruginosa* mucoide CFA 24-1 (Aislado clínico de un paciente de CF)
- V1\* R22 PSA (China) *Pseudomonas aeruginosa*
- V2\* MDR 301 PSA (Polonia) *Pseudomonas aeruginosa*
- V3\* KP05 506 (India) *Klebsiella pneumoniae*
- 20 • V4\* MDR ACB (Libia) *Acinetobacter baumannii*
- V5\* AIM-1 *E. coli*
- V9\* (Egipto) *Acinetobacter baumannii*
- V10\* (Egipto) *Acinetobacter Iwoffii*
- V11\* 5702 (Gales) *E. coli*
- 25 • V12\* 5725 (Gales) *Klebsiella pneumoniae*
- V22\* 6056 *Acinetobacter*
- V23\* 1322 *Burkholderia cepacia*

\*Designaciones no oficiales asignadas solo con propósitos de identificación internos.

- 30 Tabla 4. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos macrólidos para diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* y *E. coli* que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Cepa →		PA01 no MDR <i>Pseud aerug</i>	R79 no MDR <i>Pseu d aerug</i> (muc. )	R80 no MDR <i>Pseu d aerug</i> (muc. )	V1 MDR <i>Pseu d aerug</i> (Chin a)	V2 MDR <i>Pseu d aerug</i> (Pol.)	V3 MDR <i>Kleb pneu m</i> (India )	V4 MDR <i>Acin baum</i> (Libia )	V5 MDR <i>E. coli</i>
Antibiótico y valor de CMI µg/ml	%G								
Eritromicina	0G	128	128	512	128	128	1024	8	4
	+2%G	64	64	512	128	128	1024	2	4
	+6%G	64	32	128	64	64	1024	≤1	≤1
	+10% G	16	2	32	32	16	1024	≤1	≤1
Claritromicina	0G	256	256	1024	256	512	256	8	4
	+2%G	128	128	512	128	256	256	4	4
	+6%G	64	32	256	64	128	256	≤1	2
	+10% G	32	4	64	32	32	128	≤1	≤1
Espiramicina	0G	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	1024	512	32
	+2%G	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	1024	64	32
	+6%G	1024	1024	1024	1024	>1024	1024	64	16
	+10% G	512	256	1024	512	1024	512	32	8



Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G



Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G

Tabla 5. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para cepas de *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii* y *E. coli* que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )



Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G



Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G

Antibiótico y valor de CMI $\mu\text{g}/\text{ml}$	%G	V23 MDR <i>Burk cep</i>	V22 MDR <i>Acin. lwoff</i>	V9 MDR <i>Acin. baum</i>	V10 MDR <i>Acin. lwoff</i>	V11 MDR <i>E.coli</i>	V12 MDR <i>Kleb pneu</i>
Oxitetraciclina	0G	256	2	2	0,5	0,5	1
	+2%G	128	2	2	0,5	1	1
	+6%G	128	2	1	0,5	0,5	1
	+10%G	32	1	1	0,25	0,5	1
AZACTAM (Aztreonam)	0G	>512	256	>512	32	256	256
	+2%G	>512	128	512	16	256	512
	+6%G	512	64	256	4	256	128
	+10%G	128	32	128	1	256	64
Ciprofloxacina	0G	64	<0,25	64	0,5	128	64
	+2%G	64	<0,25	32	0,5	64	64
	+6%G	64	<0,25	32	0,25	128	256
	+10%G	32	<0,25	32	0,25	128	256
PRIMAXINA (Imipenem/ Cilastatina)	0G	32	8	1	<0,5	<0,5	<0,5
	+2%G	32	8	2	<0,5	<0,5	<0,5
	+6%G	32	8	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
	+10%G	8	4	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Meropenem	0G	64	256	16	1	<0,25	<0,25
	+2%G	64	128	8	0,5	<0,25	<0,25
	+6%G	32	128	8	<0,25	<0,25	<0,25
	+10%G	8	64	4	<0,25	<0,25	<0,25
Ceftazidima	0G	64	16	>512	2	128	64
	+2%G	32	16	512	2	64	64
	+6%G	8	4	512	<0,5	32	16
	+10%G	<0,5	2	256	<0,5	64	16
Azitromicina	0G	128	<0,25	16	<0,25	32	32
	+2%G	64	<0,25	4	<0,25	16	8
	+6%G	16	<0,25	0,5	<0,25	16	32
	+10%G	4	<0,25	<0,25	<0,25	32	32
Eritromicina	0G	512	<0,5	8	<0,5	512	512
	+2%G	256	<0,5	4	<0,5	256	256
	+6%G	128	<0,5	1	<0,5	256	512
	+10%G	16	<0,5	<0,5	<0,5	256	512
Claritromicina	0G	512	-	16	<0,5	512	512
	+2%G	256	-	4	<0,5	128	256
	+6%G	128	-	2	<0,5	256	256
	+10%G	32	-	1	<0,5	256	512
Espiramicina	0G	>4096	<4	256	<4	128	64
	+2%G	2048	<4	64	<4	64	64
	+6%G	2048	<4	32	<4	32	32
	+10%G	1024	<4	16	<4	32	16

Tabla 6. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para una cepa (V23) de *Burkholderia cepacia* en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Resultados de 3 experimentos separados.

Cepa →		Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Antibiótico y valor de CMI $\mu\text{g}/\text{ml}$	%G	V23 (18-03-10)	V23 (18-03-10)	V23 (19-03-10)
Oxitetraciclina	0G	>256	>256	≥256
	+2%G	256	>256	256
	+6%G	256	256	256
	+10%G	128	128	256
AZACTAM (Aztreonam)	0G	>4096	>4096	>4096
	+2%G	>4096	>4096	>4096
	+6%G	1024	1024	1024
	+10%G	256	512	128
PRIMAXINA (Imipenem/ Cilastatina)	0G	128	256	256
	+2%G	128	128	256
	+6%G	64	128	256
	+10%G	32	64	128
Meropenem	0G	128	128	128
	+2%G	128	128	64
	+6%G	64	128	128
	+10%G	64	128	64
Ceftazidima	0G	128	64	64
	+2%G	64	64	32
	+6%G	16	32	16
	+10%G	8	32	4
Azitromicina	0G	64	32	16
	+2%G	64	32	16
	+6%G	64	16	16
	+10%G	32	16	16
Eritromicina	0G	512	256	>512
	+2%G	256	256	128
	+6%G	128	64	64
	+10%G	64	64	16
Claritromicina	0G	256	128	32
	+2%G	256	128	128
	+6%G	128	32	32
	+10%G	128	16	512



Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G



Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G

5 En general, la tabla 4 valida los resultados descritos en las tablas 1 y 2 en relación con los efectos de OligoG CF-5/20 en las CMI de antibióticos macrólidos en una variedad de bacterias de crecimiento planctónico. En prácticamente todas las combinaciones de bacterias y macrólido, los valores de CMI se reducen al aumentar las concentraciones de OligoG CF-5/20. Los resultados también muestran que los oligómeros de alginato potencian los efectos de los antibióticos macrólidos con todas las bacterias ensayadas. Dichos efectos se pueden ver con la  
10 azitromicina sola o en combinación con otros antibióticos.

A partir de los datos presentados en las tablas 4, 5 y 6, se puede ver que en general el aumento de las concentraciones de OligoG CF-5/20 disminuía los valores de las CMI de los antibióticos usados contra las cepas MDR de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Acinetobacter baumannii* y *E. coli*. Los antibióticos ensayados incluyen antibióticos comunes en el tratamiento de la fibrosis quística. Aztreonam, primaxina (una combinación de imipenem y cilastatina), ciprofloxacina, meropenem,  
15 ceftazidima, azitromicina, eritromicina, claritromicina, y espiramicina mostraron tener todos valores de CMI que

disminuían con cantidades crecientes del OligoG CF-5/20 usado. Por lo tanto, en el caso de estos antibióticos, parece que los datos muestran que los oligómeros de alginato pueden potenciar sus efectos. Los macrólidos presentan la mayor reducción de CMI con cantidades crecientes del OligoG CF-5/20 usado. La magnitud del efecto era más pronunciado para las *Burkholderia* ensayadas y la cepa V9 de *Acinetobacter baumannii* y en estas cepas todos los antibióticos ensayados mostraron una reducción de los valores de CMI con concentraciones crecientes de oligómero de alginato.

La tabla 6 valida además los resultados de *Burkholderia* presentados en la tabla 5. Este efecto de potenciación del antibiótico visto con los oligómeros de alginato y *Burkholderia* tiene importancia clínica, ya que estos organismos están asociados con enfermedades humanas y animales que son difíciles de tratar teniendo en cuenta su tendencia a presentar resistencia al antibiótico.

Ejemplo 3

El estudio descrito en el ejemplo 1 se repitió con las siguientes cepas de *Acinetobacter baumannii*, antibióticos y oligómero de alginato de bloques M en lugar de OligoG CF-5/20 como se detalla en la tabla 7. El oligómero de bloques M es 100% M con un DPn de 15 a 18.

Tabla 7. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para una cepa de *Acinetobacter baumannii* que presenta fenotipo MDR y una cepa de *Acinetobacter baumannii* que no presenta fenotipo MDR en presencia de diferentes concentraciones de oligómero de bloques M (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )

Cepa →		V4	V19
Antibiótico y valor de CMI $\mu\text{g}/\text{ml}$		MDR	no MDR
Concentración de bloques M		<i>Acin baum</i> (Libia)	<i>Acin. baum</i>
Aztreonam	0M	2048	64
	+2%M	512	32
	+6%M	256	8
	+10%M	64	8
Ciprofloxacina	0M	64	64
	+2%M	64	32
	+6%M	64	16
	+10%M	128	128
Meropenem	0M	16	8
	+2%M	32	4
	+6%M	16	2
	+10%M	8	1
Azitromicina	0M	8	32
	+2%M	8	16
	+6%M	8	16
	+10%M	2	16



Indica valores de CMI que disminuyen con el aumento de la concentración del fragmento G



Indica valores de CMI que aumentan con el aumento de la concentración del fragmento G

Los resultados presentados en la tabla 7 muestran que los oligómeros de bloques M, igual que los OligoG CF-5/20, también son eficaces en la disminución de los valores de CMI para una serie de antibióticos diferentes (incluyendo un macrólido) en cepas MDR y no MDR de *Acinetobacter baumannii*.

Ejemplo 4

Se llevaron a cabo ensayos de CMI adicionales con diferentes cepas y antibióticos citados en las tablas 8 a 11 usando el siguiente protocolo.

Ensayo de CMI

- 5 Se disolvieron alginatos de bloques G (OligoG CF-5/20) en caldo de Mueller-Hinton (Lab M limited, LAB114 Mueller-Hinton broth) a 1,25 veces las concentraciones de ensayo deseadas (2, 6 y 10%). Los antibióticos se disolvieron en caldo de Mueller-Hinton y el caldo de Mueller-Hinton y alginato de bloques G a una concentración 1,25 veces las concentraciones de ensayo más altas deseadas. Los antibióticos eran de calidad farmacéutica adquiridos en Sigma-Aldrich. Los fragmentos de G OligoG CF-5/20 los proporcionaron Aligpharma AS, Noruega.
- Se hicieron diluciones seriadas de 2 veces de los antibióticos en Mueller-Hinton con diferentes concentraciones del alginato de bloques G y las disoluciones se pusieron en 4 pocillos paralelos en microplacas de 384 pocillos Nunc (30 µl por pocillo en microplacas Nunc 242757). Se incluyó un grupo de 8 pocillos sin adición de antibióticos para cada concentración de bloque G en cada microplaca como referencia de crecimiento.
- 10 Se hicieron cultivos madre congelados a partir de cultivos de una noche en caldo TBS para todas las cepas por adición de glicerol con concentración de 15% antes de congelar a -80°C. El día del análisis, los cultivos de una noche en TBS (6 ml en tubo de 50 ml inclinado 45 grados, 200 rpm, 2,5 cm de amplitud, 37°C) se diluyeron en TBS hasta que la DO600 era 0,10, y se diluyeron más 1:40 en caldo de Mueller-Hinton. Cada pocillo en las placas de ensayo de 384 pocillos se inoculó con 7,5 µl del cultivo diluido. Las microplacas se pusieron en bolsas de plástico y se incubaron a 37°C. La densidad óptica a 600 nm en los micropocillos se midió después de aproximadamente 18 h de incubación, y se calculó el rendimiento de crecimiento relativo basado en el crecimiento en los grupos de referencia. El valor de CMI se ajustó para la concentración más alta dando menos de 30% de crecimiento en los 4 pocillos paralelos en los grupos de muestras. Las microplacas se incubaron más durante 8 h, y se volvió a medir la densidad óptica en los cultivos para confirmar los valores de CMI calculados.
- 15
- 20 **Resultados**
- En cada una de las tablas 8 a 11 hay una tabla principal de datos básicos, y una tabla secundaria que es una representación del efecto general de los OligoCF-5/20 en el valor de CMI para cada combinación particular de bacteria y antibiótico. En la tabla secundaria un recuadro sombreado oscuro representa una reducción general del valor de CMI; un recuadro rayado representa un aumento general del valor de CMI; M indica que todos los valores de CMI eran mayores que la concentración máxima del antibiótico usado; L indica que todos los valores de CMI eran menores que la concentración mínima del antibiótico usado; NE indica que no se observó efecto en los valores de CMI; ND indica que la combinación particular de antibiótico y bacteria no se determinó.
- 25
- 30 Tabla 8. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para cepas de *Burkholderia cepacia* y *Pseudomonas aeruginosa*, que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en µg.ml<sup>-1</sup>).
- Tabla 9. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para cepas de *Acinetobacter baumannii* y *Acinetobacter lwoffii*, que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en µg.ml<sup>-1</sup>).
- 35 Tabla 10. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para cepas de *Klebsiella pneumoniae* que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en µg.ml<sup>-1</sup>).
- Tabla 11. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para cepas *E. coli* y *Providencia stuartii*, que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en µg.ml<sup>-1</sup>).
- 40 Tabla 12. Concentración mínima inhibidora (CMI) de diferentes antibióticos para cepas *Streptococcus oralis* y *Staphylococcus aureus* (MRSA) que presentan fenotipos MDR en presencia de diferentes concentraciones de OligoCF-5/20 (0-10%) (Los valores de CMI se expresan en µg.ml<sup>-1</sup>).

Cepa	Bloque G	Azitromicina	Eritromicina	Roxitromicina	Diritromicina	Azteonam	Ceftazidim	Imipenam	Ciprofloxacina	Oxitetraciclina
<b>Pseudomonas aeruginosa (MDR 301, PSA, V2) MDR</b>	0%	128	>512	>512	>512	0,125	0,5	256	1	16
	2%	64	>512	>512	>512	0,125	0,125	256	0,5	16
	6%	64	512	>512	512	0,125	0,25	128	0,5	8
	10%	32	512	>512	512	0,0625	0,125	128	0,25	8
<b>Pseudomonas aeruginosa (R22, PSA, V1) MDR</b>	0%	128	>512	>512	>512	0,125	>16	128	>8	>128
	2%	32	512	>512	>512	0,125	>16	128	>8	>128
	6%	32	512	512	512	0,0625	>16	64	>8	>128
	10%	8	256	256	256	0,03125	>16	16	>8	>128
<b>Burkholderia cepacia (1322, V23) MDR</b>	0%	64	256	512	256	>16	>16	>16	>8	128
	2%	32	128	512	256	>16	>16	16	>8	128
	6%	32	128	256	128	>16	16	16	>8	64
	10%	8	64	64	64	>16	16	16	>8	64
<b>Burkholderia cepacia (LMG18941, ATCC-BAA-246) MDR</b>	0%	64	128	256	512	>16	>16	>16	>8	32
	2%	32	128	256	256	>16	16	>16	>8	16
	6%	16	64	256	256	>16	16	>16	>8	32
	10%	16	64	128	256	>16	16	>16	>8	32

<b>Pseudomonas aeruginosa (V2)</b>	M								M	M
<b>Pseudomonas aeruginosa (V1)</b>									M	M
<b>Burkholderia cepacia (V23)</b>									M	M
<b>Burkholderia cepacia (LMG18941)</b>									M	NE

Tabla 8



Cepa	Azitromicina	Eritromicina	Roxitromicina	Ditromicina	Aztreonam	Cefazidima	Imipenem	Ciprofloxacina	Oxitetraciclina
<b>Acinetobacter lwoffii (6056, V22)</b> <b>MDR</b>	0%	<2	4	<2	64	8	2	<2	<2
	2%	<2	<2	<2	32	4	2	<2	<2
	6%	<2	<2	<2	16	2	2	<2	<2
	10%	<2	<2	<2	4	2	<2	<2	<2
<b>Acinetobacter baumannii (Egipto, V9)</b> <b>MDR</b>	0%	4	8	4	>16	>16	2	>8	1
	2%	<1	2	<1	>16	>16	<2	>8	0,5
	6%	<1	1	4	>16	>16	2	8	1
	10%	<1	<1	2	>16	>16	<2	8	0,5
<b>Acinetobacter baumannii</b> <b>(MDR ACB, Libia, V4)</b>	0%	16	32	128	64	16	2	4	2
	2%	2	8	32	8	8	2	1	2
	6%	<1	4	16	2	8	2	1	2
	10%	<1	2	16	<1	0,5	<2	0,5	1
<b>Acinetobacter lwoffii (Egipto, V10)</b> <b>MDR</b>	0%	<1	1	4	<1	2	<2	0,063	0,5
	2%	<1	<1	<1	<1	1	<2	0,031	0,5
	6%	<1	<1	<1	<1	0,25	<2	0,031	0,5
	10%	<1	<1	<1	<1	1	<2	0,031	0,5

<b>Acinetobacter lwoffii (V22)</b>	L	L	L	L	L	L	L	L	L
<b>Acinetobacter baumannii (V9)</b>	L	L	L	M	M	M	NE	NE	NE
<b>Acinetobacter baumannii (V4)</b>	L	L	L	L	L	L	L	L	NE
<b>Acinetobacter lwoffii (V10)</b>	L	L	L	L	L	L	L	L	NE

Tabla 9

Cepa	Bloque G	Azitromicina	Eritromicina	Roxitromicina	Ditromicina	Aziteonam	Cefazidina	Imipenem	Ciprofloxacina	Oxitetraciclina
<b>Klebsiella pneumoniae (IR25, India, V6)</b> MDR	0%	128	512	1024	1024	512	>1024	<2	128	2
	2%	64	512	>1024	1024	256	1024	2	64	2
	6%	32	256	1024	512	128	>1024	2	64	2
	10%	16	256	>1024	256	64	1024	2	64	2
<b>Klebsiella pneumoniae (5712, Gales, V12)</b> MDR	0%	16	512	256	128	4	>16	<2	>8	1
	2%	16	256	512	64	4	8	<2	>8	1
	6%	16	256	512	64	4	>16	<2	>8	1
	10%	16	256	512	32	4	>16	<2	>8	1
<b>Klebsiella pneumoniae (K3, India, V8)</b> MDR	0%	16	128	512	256	512	>1024	8	32	512
	2%	8	128	256	128	256	>1024	16	32	512
	6%	16	128	>1024	128	128	>1024	16	>1024	512
	10%	16	128	>1024	128	128	>1024	8	>1024	1024

<b>Klebsiella pneumoniae (V6)</b>		M		M						NE
<b>Klebsiella pneumoniae (V12)</b>	NE					NE	M	L	M	NE
<b>Klebsiella pneumoniae (V8)</b>	NE	NE	M				M	NE	M	

Tabla 10

Cepa	Bloque G	Azitromicina	Eritromicina	Roxitromicina	Ditromicina	Azteonam	Ceftazidima	Imipenem	Ciprofloxacina	Oxitetraciclina
Escherichia coli (5702, Gales, V11) MDR	0%	16	512	512	128	256	>16	<2	>8	0,5
	2%	16	256	128	64	256	>16	<2	>8	0,5
	6%	8	256	256	32	128	>16	<2	>8	0,5
	10%	16	256	512	64	64	>16	<2	>8	0,25
Providencia stuartii (IR57 India, V7) MDR	0%	<2	32	64	8	>1024	>1024	16	128	128
	2%	<2	16	32	4	>1024	>1024	16	128	128
	6%	<2	16	32	4	>1024	>1024	16	128	128
	10%	<2	16	32	2	>1024	>1024	8	128	128

Escherichia coli (V11)	NE	NE	M	L	M	M	M	M	M	NE
Providencia stuartii (V7)	L		M						NE	NE

Tabla 11

Cepa	Bloque G	Azitromicina	Eritromicina	Roxitromicina	Diritromicina	Aztreonam	Ceftazidima	Imipenem	Ciprofloxacina	Oxitetraciclina
<b>Streptococcus oralis (5610, V17)</b> <b>MDR</b>	0%		2	8	4		8	<0,03125	32	<0,25
	2%		16	8	4		4	16	<0,0625	<0,25
	6%		0,03125	0,03125	<0,03125		0,03125	1	2	0,5
	10%		0,0625	16	0,03125		1	<0,03125	2	<0,25
<b>MRSA 1040s, U50</b> <b>MDR</b>	0%	512	>1024	>1024	1024	1024	>16	0,0625	32	2
	2%	256	>1024	1024	512	1024	16	0,0625	32	2
	6%	256	1024	512	512	512	8	0,03125	>1024	1
	10%	256	512	256	256	512	2	<0,03125	>1024	0,5

<b>Streptococcus oralis (5610, V17)</b>	ND	ND	NE	M
<b>MRSA 1040s, U50</b>	ND	ND	NE	M

Tabla 12

Los datos presentados en las tablas 8 a 12 muestran en general que concentraciones crecientes de OligoCF-5/20 (0-10%) disminuyen los valores de CMI para todos los antibióticos ensayados (azitromicina, eritromicina, roxitromicina, diritromicina (macrólidos), aztreonam (monobactámicos), ceftazidima (cefalosporina), imipenem (carbapenémico), ciprofloxacina (quinolona) y oxitetraciclina (tetraciclina)) en una u otra cepa bacteriana). Es de destacar que la tabla 12 muestra que el OligoCF-5/20 reduce los valores de CMI en organismos gram positivos (MRSA U50 y *Streptococcus oralis*). El efecto es particularmente pronunciado con la cepa MRSA ensayada. Esto destaca la aplicabilidad general del uso de oligómeros de alginato junto con antibióticos en el tratamiento de todas las bacterias MDR (sean gram negativas, gram positivas o no sensibles a gram), p. ej., superando la resistencia de las bacterias MDR a los tratamientos con antibióticos o potenciando la eficacia de esos antibióticos.

El efecto se observó de forma más sistemática a lo largo de los antibióticos ensayados en especies de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia* y MRSA, y en particular cepas V1, V2, V23, V4 y V9. Es interesante que en estas cepas de ejemplo V23 y V9 mostraron 5 casos de NE (no hay efecto) o M (las CMI estaban por encima de la concentración máxima del antibiótico usado), sin embargo en el ejemplo 2 los datos muestran que estas 5 combinaciones de bacterias y antibióticos de hecho no presentan reducciones de la CMI con las concentraciones crecientes de OligoCF-5/20. Esto destaca la aplicabilidad más específica del uso de oligómeros de alginato a lo largo de los antibióticos en el tratamiento de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia* y MRSA MDR, p. ej., superando la resistencia que estas bacterias tienen a los tratamientos con antibióticos o potenciando la eficacia de esos antibióticos contra esas bacterias en particular.

El efecto se observó de forma más sistemática a lo largo de las cepas ensayadas con los macrólidos (azitromicina, eritromicina, roxitromicina, diritromicina) y en menor extensión con aztreonam, ceftazidima y ciprofloxacina. Esto destaca la aplicabilidad más específica de los oligómeros de alginatos al tratamiento de bacterias en general, incluyendo bacterias MDR con macrólidos (p. ej. azitromicina, eritromicina, roxitromicina, diritromicina) en particular, pero también quinolonas (p. ej. ciprofloxacina), monobactámicos (p. ej. aztreonam) y cefalosporinas (p. ej. ceftazidima), p. ej., superando la resistencia en bacterias MDR a estos tratamientos con antibióticos o potenciando la eficacia de esos antibióticos contra bacterias.

También es importante destacar la evidencia proporcionada en la tabla 11, que muestra que el OligoCF-5/20 puede disminuir los valores de CMI para una  $\beta$ -lactama (imipenem, un carbapenémico) en *Providencia stuartii* MDR. La resistencia a  $\beta$ -lactamas en poblaciones de *Providencia* está aumentando y por lo tanto los oligómeros de alginato pueden representar un nuevo enfoque para el tratamiento de infecciones por *Providencia*.

## REIVINDICACIONES

- 1.- Un método in vitro o ex vivo para superar la resistencia a al menos un antibiótico en una bacteria gram negativa MDR, comprendiendo dicho método poner en contacto dicha bacteria o un sitio en el que está localizada dicha bacteria con un oligómero de alginato junto con el antibiótico.
- 5 2.- Un oligómero de alginato para usar junto con al menos un antibiótico en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria gram negativa MDR, para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria.
- 10 3.- Uso de un oligómero de alginato para la fabricación de un medicamento para usar con al menos un antibiótico en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria gram negativa MDR, para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria.
- 4.- Un producto que contiene un oligómero de alginato y un antibiótico como una preparación combinada para el uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento de un sujeto infectado, que se sospecha que está infectado, o con riesgo de infección, con una bacteria gram negativa MDR, para superar la resistencia al antibiótico en dicha bacteria.
- 15 5.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la bacteria es resistente a
- (i) tres o más clases de antibióticos seleccionados de los macrólidos, las  $\beta$ -lactamas, las tetraciclinas, los antibióticos polipéptidos y las quinolonas; o
- 20 (ii) tres o más antibióticos seleccionados de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, troleandomicina, roxitromicina, espiramicina, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y trovafloxacina; o
- 25 (iii) uno o más antibióticos seleccionados de ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina, oxitetraciclina y ciprofloxacina; o
- (iv) uno o más antibióticos que son un tratamiento convencional para esa bacteria.
- 30 6.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la bacteria es de la familia de *Enterobacteriaceae* o es una bacteria gram negativa no fermentadora.
- 7.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de la reivindicación 6, en donde la bacteria se selecciona de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Escherichia*, *Providencia* y *Klebsiella*, preferiblemente en donde la bacteria es una de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia spp*, *E. coli*, *Providencia stuartii* y *Klebsiella pneumoniae*, y más preferiblemente en donde la bacteria es una cepa MDR de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Burkholderia cepacia*, *Providencia stuartii* o *Acinetobacter baumannii* que es resistente a uno o más antibióticos seleccionados de ciprofloxacina, meropenem, ceftazidima, aztreonam, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina, oxitetraciclina e imipenem/cilastatina.
- 35 8.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el antibiótico se selecciona de los macrólidos, las  $\beta$ -lactamas, las tetraciclinas, los antibióticos polipéptidos y las quinolonas, preferiblemente los macrólidos, las  $\beta$ -lactamas, las tetraciclinas y las quinolonas, más preferiblemente los macrólidos, las  $\beta$ -lactamas y las quinolonas, y en especial preferiblemente el antibiótico es un macrólido.
- 40 9.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de la reivindicación 8, en donde el antibiótico se selecciona de azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, telitromicina, carbomicina A, josamicina, kitasamicina, midecamicina, oleandomicina, espiramicina, tilosina, troleandomicina, aztreonam, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, bacitracina, colistina, polimixina B, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y trovafloxacina, preferiblemente
- 45 ceftazidima, imipenem/cilastatina, meropenem, aztreonam, oxitetraciclina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, espiramicina y ciprofloxacina.
- 50 10.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicha bacteria es una *Burkholderia sp.* seleccionada de *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei* y *Burkholderia mallei*, preferiblemente *Burkholderia cepacia*.

- 11.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el oligómero de alginato:
- (i) tiene un peso molecular medio menor de 35.000 Daltons, preferiblemente menor de 30.000, 25.000 o 20.000 Daltons; o
  - 5 (ii) tiene un grado de polimerización medio numérico de 2 a 100, preferiblemente de 2 a 75, 2 a 50, 2 a 35, 2 a 30, 2 a 25 o 2 a 20; o
  - (iii) tiene hasta 100 restos de monómero, y preferiblemente es un oligómero de 2 a 35, 2 a 30, 3 a 35, 3 a 28, 4 a 25, 6 a 22, 8 a 20 o 10 a 15 unidades.
- 12.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% de restos G, preferiblemente al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o 100% de restos G.
- 13.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de la reivindicación 12, en donde al menos 80% de los restos G están dispuestos en bloques G.
- 14.- El método, oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% de restos M, preferiblemente tiene al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o 100% de restos M.
- 15.- El oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 14, en donde la infección es de una superficie del cuerpo interna o externa seleccionada de una superficie en la cavidad oral, aparato reproductor, tracto urinario, tracto respiratorio, tracto gastrointestinal, peritoneo, oído medio, próstata, íntima vascular, ojo, incluyendo la conjuntiva o tejido de la córnea, tejido pulmonar, válvulas cardíacas, piel, cuero cabelludo, uñas, el interior de las heridas o la superficie de tejido suprarrenal, hepático, renal, pancreático, pituitaria, tiroides, inmunológico, ovárico, testicular, prostático, endometrial, ocular, mamario, adiposo, epitelial, endotelial, neuronal, muscular, pulmonar, epidermis u óseo; o en un fluido corporal seleccionado de sangre, plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, contenidos del tracto GI, esputo, secreciones pulmonares y semen; o en o sobre tejido corporal seleccionado de tejido suprarrenal, hepático, renal, pancreático, pituitaria, tiroides, inmunológico, ovárico, testicular, prostático, endometrial, ocular, mamario, adiposo, epitelial, endotelial, neuronal, muscular, pulmonar, epidermis u óseo.
- 16.- El oligómero de alginato, uso o producto de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15, en donde el sujeto es:
- (i) un sujeto con una infección preestablecida, un sujeto inmunocomprometido, un sujeto en cuidados intensivos o críticos, un sujeto que padece un traumatismo, un sujeto con una quemadura, un sujeto con una herida aguda y/o crónica, un sujeto neonatal, un sujeto anciano, un sujeto con cáncer, un sujeto que padece una afección autoinmunitaria, un sujeto con secreción epitelial o endotelial y/o aclaración de la secreción reducida o anulada, o un sujeto provisto de un dispositivo médico; o
  - 35 (ii) un sujeto con una afección seleccionada de VIH, septicemia, choque séptico, SIDA, un cáncer del sistema inmunitario, artritis reumatoide, diabetes mellitus de tipo I, enfermedad de Crohn, COPD, COAD, COAP, bronquitis, fibrosis quística, enfisema, cáncer de pulmón, asma, neumonía y sinusitis, un sujeto que se prepara para someterse o recuperarse de quimioterapia y/o radioterapia, un sujeto con trasplante de órgano, un sujeto que reside en una institución sanitaria o un fumador; o
  - 40 (iii) un sujeto con una afección o enfermedad respiratoria, preferiblemente seleccionada de COPD, COAD, COAP, bronquitis, fibrosis quística, enfisema, cáncer de pulmón, asma y neumonía.
- 17.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 5 a 14, en donde dicha bacteria está en una superficie inanimada o en un material inanimado.
- 18.- El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 5 a 14 ó 17, en donde la bacteria está:
- 45 (i) en una superficie seleccionada de maquinaria o equipamiento de procesamiento, preparación, almacenamiento o dispensación de alimentos o bebidas, superficies de aparatos de aire acondicionado, superficies de maquinaria industrial, superficies de depósitos de almacenamiento, superficies de equipamiento médico o quirúrgico, superficies de equipamiento acuático/marino o las superficies de edificios y otras estructuras; o
  - 50 (ii) sobre una superficie seleccionada de equipamiento de procesamiento, almacenamiento, dispensación o preparación de alimentos, depósitos, transportadores, suelos, tubos de drenaje, refrigerantes, congeladores, superficies de equipamiento, paredes, válvulas, cintas, tuberías, conductos de aire acondicionado, aparatos de enfriamiento, tubos de dispensación de alimento o bebida, intercambiadores de calor, cascos de embarcaciones, conductos de agua dentales, conductos de perforación para petróleo, lentes de contacto, cajas de almacenamiento, catéteres, dispositivos protésicos o dispositivos médicos implantables; o

(iii) en un material seleccionado de residuos clínicos/científicos, productos alimenticios para animales o seres humanos, productos de higiene personal, cosméticos, suministros de agua potable, suministros de aguas residuales, piensos y suministros agua agrícolas, formulaciones insecticidas, formulaciones pesticidas, formulaciones herbicidas, lubricantes industriales, medios de cultivo celulares y tisulares, y cultivos celulares y tisulares.

5