

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 866**

51 Int. Cl.:

A01N 63/02	(2006.01)	A61K 31/734	(2006.01)
A01N 65/03	(2009.01)	A61K 31/7036	(2006.01)
A01N 43/16	(2006.01)		
A01P 1/00	(2006.01)		
A61K 8/66	(2006.01)		
A61K 45/06	(2006.01)		
A61K 8/73	(2006.01)		
A61K 38/48	(2006.01)		
A61Q 19/00	(2006.01)		
A61K 31/65	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.10.2008 PCT/GB2008/003607**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.06.2009 WO09068841**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2008 E 08875658 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.02.2017 EP 2268142**

54 Título: **Uso de oligómeros de alginatos para combatir las biopelículas**

30 Prioridad:

27.11.2007 US 996611 P

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

20.07.2017

73 Titular/es:

**ALGIPHARMA AS (100.0%)
Industriveien 33
1337 Sandvika, NO**

72 Inventor/es:

**ONSOYEN, EDVAR y
MYRVOLD, ROLF**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 625 866 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

Uso de oligómeros de alginatos para combatir las biopelículas

5 La presente invención se refiere a la lucha contra biopelículas. En particular, la presente invención se refiere al uso de una clase particular de oligómeros de alginato que tienen al menos 70% de residuos de guluronato (G), para combatir biopelículas, incluyendo tanto en superficies bióticas como abióticas. De este modo, se proporcionan usos y métodos tanto médicos como no médicos, para combatir la infección de biopelícula o para combatir la formación de biopelícula en superficies inanimadas, por ejemplo, para fines de desinfección y limpieza. La invención se basa en el sorprendente descubrimiento de que ciertos oligómeros de alginato, esto es, aquellos que tienen al menos 70% residuos de G, son capaces de interactuar e interferir con la biopelícula.

15 En términos generales, una biopelícula es una colección o comunidad de microorganismos rodeados por una matriz de polímeros extracelulares (también conocida en la técnica como glicocálix). Estos polímeros extracelulares son por lo general polisacáridos, especialmente polisacáridos producidos por los propios organismos, pero también pueden contener otros biopolímeros. Una biopelícula se unirá por lo general a una superficie, que puede ser inerte o viva, pero también se ha observado que las biopelículas se pueden formar a partir de microorganismos unidos entre sí o en cualquier interfase. Generalmente, por lo tanto, una biopelícula se caracteriza como una comunidad multicelular altamente organizada de microorganismos encerrados en, o rodeados por, una matriz polimérica extracelular, generalmente una matriz de polisacárido, y generalmente en estrecha asociación con una superficie o interfase. Dicho modo de crecimiento protege a los microorganismos y los hace difíciles de eliminar o erradicar (por ejemplo, como se discute más adelante, es recalcitrante o resistente a agentes antimicrobianos o mecanismos de defensa o eliminación del huésped). Se cree, de acuerdo con la presente invención, que los oligómeros de alginato pueden interactuar con la matriz polimérica de la biopelícula, y de este modo debilitar la biopelícula. Como se analiza más adelante, las biopelículas causan importantes problemas comerciales, industriales y médicos, en términos de infecciones, contaminación, ensuciamiento y deterioro, etc., y de este modo la presente invención proporciona una ventaja significativa para permitir o facilitar la lucha contra de tales biopelículas y hacerlos más susceptibles a la eliminación o reducción, por ejemplo, más susceptibles al efecto de agentes antimicrobianos (incluyendo desinfectantes o antibióticos) o incluso en el caso de una infección, a la respuesta inmune del huésped infectado. De este modo, la eficacia de agentes antimicrobianos, tanto terapéuticos como no terapéuticos e incluyendo particularmente antibióticos, puede ser mejorada.

35 Las biopelículas se encuentran ubicuos en una amplia variedad de superficies o interfases (por ejemplo, interfases agua/sólido y agua/gas (por ejemplo, agua/aire) si existen condiciones que conducen a la colonización microbiana. Básicamente, se formará una biopelícula dondequiera que haya microorganismos y una interfase o superficie, particularmente una superficie expuesta al agua o la humedad y las biopelículas se reconocen ahora como el estado natural del crecimiento microbiano en tales superficies o interfases. En términos básicos, como se ha indicado anteriormente, una biopelícula es la disposición compleja y organizada de colonias microbianas sobre una superficie, o en una interfase, que puede ocurrir particularmente en presencia de agua o humedad. La organización de estas colonias se debe a la capacidad de los microorganismos para producir una matriz extracelular organizada en la que las células están "incrustadas". Esta matriz se forma a partir de biopolímeros producidos por los microorganismos con polisacáridos por lo general el polímero predominante.

45 Los microorganismos en una comunidad de biopelícula muestran propiedades en la palanca celular (fenotipo) que no son compartidas por sus equivalentes planctónicos (flotantes libres). De hecho, se cree que los microorganismos en una biopelícula son profundamente diferentes de las células planctónicas flotantes libremente. Otras diferencias se pueden observar también a nivel comunitario y se atribuyen a los efectos de la matriz extracelular. Tal vez lo más notable es el fenómeno comúnmente observado de que los microorganismos en un entorno de biopelícula no muestran las mismas susceptibilidades a agentes antimicrobianos, por ejemplo, antibióticos, antifúngicos y microbicidas, y las defensas inmunitarias o mecanismos de eliminación del huésped. Se cree que esta resistencia se debe al efecto de barrera de la matriz extracelular y/o a un cambio fenotípico en los propios microbios. Por ejemplo, una vez que las biopelículas se forman, los anticuerpos ya no se adhieren a los microorganismos (por ejemplo, bacterias) dentro de la biopelícula. Los experimentos han mostrado anticuerpos densamente incrustados en el exterior de la biopelícula, pero no dentro de la misma biopelícula. Los estudios sobre la actividad de los glóbulos blancos contra las biopelículas han demostrado hallazgos similares. La producción de toxinas también podría ser diferente entre un microbio planctónico y su equivalente residiendo en una colonia de biopelículas, lo que sugiere cambios fenotípicos en los microbios. También se cree que los microorganismos en las biopelículas pueden crecer más lentamente y, como resultado, absorben los agentes antimicrobianos más lentamente.

60 Las biopelículas se forman fácilmente en superficies del medio ambiente acuático y una colonia microbiana establecida en cualquier superficie expuesta al agua (cualquier superficie "húmeda") casi con certeza existirá como estructura de biopelícula. Además, ahora se hace evidente y cada vez más documentado que las biopelículas también se pueden formar en el caso de infecciones microbianas, esto es, dentro o sobre un huésped infectado. De este modo, la formación de biopelícula también se puede producir en una superficie "fisiológica" o "biológica", es decir, en una superficie animada o biótica, o una superficie sobre o en un organismo huésped infectado (por ejemplo, un sujeto humano o animal no humano), por ejemplo, sobre una superficie interna o externa del cuerpo o

del tejido. Se cree cada vez más que esta formación de biopelícula (o infección) en los tejidos corporales contribuye a diversas enfermedades infecciosas, incluyendo por ejemplo, la endocarditis nativa de válvula (válvulas mitral, aórtica, tricúspide, cardíacas pulmonares), otitis media aguda (oído medio), prostatitis bacteriana crónica (próstata), fibrosis quística (pulmones), neumonía (tracto respiratorio), periodontitis (tejidos que sostienen los dientes, por ejemplo, encías, ligamento periodontal, hueso alveolar). Por supuesto, estos dos nichos de biopelícula están presentes cuando se implantan dispositivos médicos y la formación de biopelícula en tales dispositivos implantados ("en la vivienda") puede conducir a problemas clínicos con infección en tales sitios, tales como endocarditis de prótesis valvular y la infección relacionada con el dispositivo, por ejemplo, con dispositivos intrauterinos, lentes de contacto, prótesis (por ejemplo, articulaciones protésicas) y en sitios de cateterización, por ejemplo, con catéteres venosos centrales o urinarios.

Un problema y riesgo significativo con tales infecciones de biopelícula es que los microorganismos (o más particularmente las microcolonias) se pueden romper o separar de la biopelícula, y entrar en otros tejidos, incluyendo significativamente la circulación. Tales microorganismos derivados de la biopelícula circulante pueden causar infecciones adicionales y dar lugar a problemas clínicos significativos, en particular porque los microorganismos circulantes separados pueden tener todas las características de resistencia de la comunidad de progenitores.

Una infección de biopelícula por lo general se desarrolla gradualmente y puede ser lenta para producir síntomas evidentes. Sin embargo, una vez establecidas, como se indicó anteriormente las biopelículas son difíciles de eliminar y una infección de biopelícula suele ser persistente y rara vez resuelta por mecanismos de defensa o inmunológicos del huésped, incluso en individuos con respuestas inmunes innatas y adaptativas sanas. Las respuestas activas del huésped pueden de hecho ser perjudiciales, por ejemplo, la inmunidad mediada por células (por ejemplo, neutrófilos invasores) puede causar daño colateral al tejido huésped sano vecino. Las infecciones por biopelícula responden sólo transitoriamente a la terapia con antibióticos. De este modo, aunque las células microbianas planctónicas pueden ser eliminadas por anticuerpos o fagocitos y son susceptibles a antimicrobianos, los microorganismos en las biopelículas tienden a ser resistentes a anticuerpos, fagocitos y antimicrobianos. Los fagocitos son atraídos por la biopelícula, pero la fagocitosis se frustra. Sin embargo, las enzimas fagocíticas se liberan y pueden dañar el tejido alrededor de la biopelícula. Las bacterias planctónicas se pueden liberar de la biopelícula y tal liberación puede causar diseminación e infección aguda en tejido vecino.

Las superficies de cuerpo o tejido que están muertas o dañadas (por ejemplo, necróticas o inflamadas) son particularmente susceptibles a la infección de biopelícula. Las heridas son susceptibles a la infección y la formación de biopelícula puede ocurrir en heridas que no curan en un corto periodo de tiempo. Las heridas son un entorno ideal para la formación de biopelículas debido a su susceptibilidad a la colonización bacteriana y la disponibilidad de sustrato y superficie para la fijación de la biopelícula. Problemáticamente, la infección de una herida retrasa a menudo la curación más lejos y de este modo hace que la herida más susceptible a la formación de la biopelícula y a la infección establecida. Las heridas en las que se retrasa la cicatrización (las llamadas heridas crónicas) representan sitios de particular preocupación con respecto a la formación de biopelícula. Una herida crónica se encuentra en un estado inflamatorio, con niveles elevados de citoquinas proinflamatorias. El efecto de estas citoquinas es producir un enjambre del área con células inmunes (neutrófilos y macrófagos). Si este sistema de defensa se retrasa de alguna manera (como en las heridas crónicas), las bacterias u otros microorganismos tienen tiempo de adherirse a la superficie y entrar en el modo de crecimiento de la biopelícula. Cada vez es mayor la evidencia de que tanto las heridas crónicas como las agudas pueden ser sitios de infección de biopelícula, con evidencia de diversas comunidades o poblaciones microbianas en heridas, particularmente heridas crónicas, incluyendo bacterias anaeróbicas en heridas crónicas. Las infecciones crónicas de la herida comparten dos atributos importantes con otras infecciones de biopelícula: infección persistente que no es eliminada por el sistema inmune del huésped ni siquiera en individuos con reacciones inmunes innatas y adaptativas sanas y mayor resistencia a agentes antimicrobianos sistémicos y tópicos. De acuerdo con lo anterior, la infección basada en biopelícula es muy difícil de tratar y la contaminación con biopelícula es muy difícil de erradicar. El desbridamiento frecuente es uno de los tratamientos clínicamente más eficaces para curar heridas crónicas. Este es un tratamiento eficaz, en parte, porque elimina físicamente la biopelícula de la herida. Esto es similar en principio a la resolución de infecciones de dispositivos médicos en la vivienda colonizados de biopelícula (por ejemplo, catéteres)-donde la terapia con antibióticos es ineficaz, el enfoque más eficaz es eliminar o reemplazar el dispositivo infectado con biopelícula.

Las heridas crónicas son un problema de salud importante en todo el mundo y representan una pérdida significativa de recursos clínicos. Tres tipos principales de heridas crónicas son las úlceras del pie diabético, las úlceras venosas de las piernas y las úlceras por presión, aunque otras heridas, incluidas las heridas quirúrgicas, pueden llegar a ser crónicas. El cuidado de tal herida impone un enorme coste de material y de paciente, y por lo tanto un tratamiento antibiopelícula efectivo, o efectivamente cualquier tratamiento que ayude o facilite el tratamiento de biopelículas y de este modo acelerar o facilitar la cicatrización de heridas, tendrá un impacto muy significativo.

De manera más general, dada la generalizada presencia de biopelículas y los problemas médicos, ambientales, industriales u otros comerciales que causan, cualquier medio para mejorar o permitir la lucha contra de biopelículas sería muy importante, tanto desde el punto de vista clínico como comercial.

Por lo tanto, existe la necesidad de nuevos métodos de combatir biopelículas, tanto en situaciones clínicas como industriales o comerciales, y la presente invención está dirigida a abordar esta necesidad.

5 Hu, X.; et al., 2005, Journal of Applied Phycology, Vol 17(1), 57-60 describen la actividad antibacteriana de los productos despolimerizados con liasa de alginato.

Kitamikado, M., et al., 1993, Nippon Suisan Gakkaishi, Vol 59(2), 315-320 describen la acción bacteriostática de oligosacáridos preparados a partir de alginato por degradación enzimática.

10 La EP 0506326 describe el uso de poliuretanos beta 1-4 diequitorialmente unidos para la estimulación de citoquinas y efectos antibacteriológicos posteriores.

15 Moskowitz, S. M., 2004, Journal of Clinical Microbiology vol 42(5), 1915-1922 describe un ensayo de susceptibilidad de biopelícula clínicamente viable para aislados de *Pseudomana aeruginosa* de pacientes con fibrosis quística.

20 En particular, y como se ha indicado anteriormente, se ha encontrado que una clase particular de alginatos, a saber, oligómeros de alginato que tienen al menos 70% residuos de G, son eficaces como agentes antibiopelícula. Tales oligómeros de alginato pueden interactuar con los polímeros extracelulares de la biopelícula, y por lo tanto debilitarlo, permitiendo o facilitando su eliminación o ruptura (o interrupción), y/o facilitando el acceso de agentes antimicrobianos a la biopelícula, aumentando así su eficacia contra la biopelícula. De acuerdo con lo anterior, según la presente invención se propone un nuevo método o medios para combatir la biopelícula que implica el uso de tales oligómeros de alginato.

25 En lo que sigue, las referencias a "un oligómero de alginato" u "oligómeros de alginato" en el contexto de la invención son referencias a oligómeros de alginato que tienen al menos 70% residuos de G, a menos que se indique explícitamente lo contrario.

30 Los alginatos son polímeros lineales de ácido β -D-manurónico (1-4) unido (M) y/o su epímero C-5 ácido α -L-gulurónico (G). La estructura primaria de los alginatos puede variar enormemente. Los residuos M y G se pueden organizar como bloques homopoliméricos de residuos M o G contiguos, ya que se pueden encontrar bloques de residuos M y G alternantes y residuos M o G individuales intercalando estas estructuras de bloques. Una molécula de alginato puede comprender algunas o todas estas estructuras y dichas estructuras podrían no estar uniformemente distribuidas a través del polímero. En el extremo, existe un homopolímero de ácido gulurónico (poliguluronato) o un homopolímero de ácido manurónico (polimanuronato).

35 Se han aislado alginatos de algas pardas marinas (por ejemplo, ciertas especies de *Durvillea*, *Lessonia* y *Laminaria*) y bacterias tales como *Pseudomonas aeruginosa* y *Azotobacter vinelandii*. Otras pseudomonas (por ejemplo, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, y *Pseudomonas mendocina*) mantienen la capacidad genética para producir alginatos, pero en la naturaleza no producen niveles detectables de alginato. Mediante la mutación, estas pseudomonas no productoras pueden ser inducidas a producir cantidades grandes estables de alginato.

40 El alginato se sintetiza como polimanuronato y los residuos G se forman mediante la acción de epimerasas (específicamente epimerasas C-5) sobre los residuos M en el polímero. En el caso de los alginatos extraídos de las algas, los residuos G se organizan predominantemente como bloques G porque las enzimas implicadas en la biosíntesis de alginato en las algas preferentemente introducen el G vecino a otro G, convirtiendo de este modo los tramos de residuos M en bloques G. La elucidación de estos sistemas biosintéticos ha permitido la producción de alginatos con estructuras primarias específicas (WO 94/09124, Gimmetstad, M et al, Journal of Bacteriology, 2003, Vol 185(12) 3515-3523 y WO 2004/011628).

45 Los alginatos se aíslan por lo general de fuentes naturales como polímeros grandes de alto peso molecular (por ejemplo, un peso molecular medio en el intervalo de 300,000 a 500,000 Dalton). Se sabe, sin embargo, que tales polímeros de alginato grandes se pueden degradar o descomponer, por ejemplo, por hidrólisis química o enzimática para producir estructuras de alginato de menor peso molecular. Los alginatos que se utilizan industrialmente tienen por lo general un peso molecular medio en el intervalo de 100,000 a 300,000 Dalton (esto es, tales alginatos todavía se consideran polímeros grandes) aunque los alginatos de un peso molecular promedio de aproximadamente 35,000 Dalton se han utilizado en productos farmacéuticos.

50 Se ha encontrado ahora que los oligómeros de alginato que tienen al menos 70% residuos de G tienen la capacidad de interferir con la matriz extracelular de biopelículas. Sin pretender limitarse a ninguna teoría en particular, se cree que esta interferencia causa la descomposición de la matriz extracelular de la biopelícula, lo que conduce a la ruptura física de la biopelícula. La descomposición también aumenta la exposición de los microorganismos dentro de la biopelícula (o sus componentes inmunogénicos, por ejemplo, estructuras de LPS y péptidoglucano) a las defensas inmunitarias de un huésped infectado y/o cualquier agente antimicrobiano que se ha aplicado o se va a aplicar. La descomposición también reduce la intimidad de la relación entre la matriz extracelular y los microorganismos y esto conduce a un aumento en la sensibilidad del microorganismo a agentes antimicrobianos a un nivel fenotípico.

Por lo tanto, la invención proporciona un método para combatir la biopelícula que no está en o sobre un cuerpo humano o animal no humano, comprendiendo dicho método poner en contacto dicha biopelícula con un oligómero de alginato, en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% residuos de G.

5 La invención proporciona además un oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula en un sujeto, en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% residuos de G.

10 La invención proporciona además el uso de un oligómero de alginato en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de una infección de biopelícula en un sujeto en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% residuos de G.

15 Como se ha indicado anteriormente, los alginatos por lo general se presentan como polímeros de un peso molecular medio de al menos 35,000 Dalton, esto es, aproximadamente 175 a 190 residuos de monómero, aunque por lo general mucho más altos y un oligómero de alginato de acuerdo con la presente invención se puede definir como un material obtenido por fraccionamiento (esto es, reducción de tamaño) de un polímero de alginato, comúnmente un alginato de origen natural. Se puede considerar que un oligómero de alginato es un alginato de un peso molecular medio inferior a 35,000 Dalton (esto es, inferior a aproximadamente 190 o inferior a 175 residuos monómero), en particular un alginato de un peso molecular medio inferior a 30,000 Dalton (esto es, inferior a aproximadamente 175 o inferior a 150 residuos de monómero) más particularmente un peso molecular medio inferior a 25,000 o 20,000 Dalton (esto es, inferior a aproximadamente 135 o 125 residuos de monómero o inferior a aproximadamente 110 o 100 residuos de monómero).

25 Visto alternativamente, un oligómero comprende generalmente 2 o más unidades o residuos y un oligómero de alginato para uso de acuerdo con la invención contendrá por lo general de 2 a 100 residuos de monómero, preferiblemente de 2 a 75, preferiblemente de 2 a 50, más preferiblemente de 2 a 40, 2 a 35 o 2 a 30, esto es, un oligómero de alginato para uso de acuerdo con la invención tendrá por lo general un peso molecular medio de 350 a 20,000 Dalton, preferiblemente 350 a 15,000 Dalton, preferiblemente 350 a 10,000 Dalton y más preferiblemente 350 a 8000 Dalton, 350 a 7000 Dalton, o 350 a 6,000 Dalton.

30 Alternativamente, el oligómero de alginato puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado medio de polimerización (DP_n) de 2 a 100, preferiblemente 2 a 75, preferiblemente 2 a 50, more preferiblemente 2 a 40, 2 a 35 o 2 a 30.

35 Como se ha indicado anteriormente, las biopelículas se forman por lo general sobre superficies o interfases y la biopelícula que se trata de acuerdo con la presente invención puede estar sobre cualquier superficie o interfase. De acuerdo con lo anterior, la biopelícula objetivo puede estar en cualquier superficie animada o inanimada (o biótica o abiótica), esto es, cualquier superficie viviente o superficie derivada de material vivo (por ejemplo, tejido muerto o dañado, por ejemplo, tejido necrótico) (en este documento se utiliza el término "animado" para incluir cualquier superficie viviente o cualquier superficie derivada de material vivo, en particular una superficie viva que ha muerto), o cualquier superficie inerte o no viva (una superficie que no ha estado previamente viva o animada).

45 El término "contacto" abarca cualquier medio para suministrar el oligómero de alginato a la biopelícula, ya sea directa o indirectamente, y de este modo cualquier medio de aplicar el oligómero de alginato a la biopelícula o exponer la biopelícula al oligómero de alginato, por ejemplo, aplicar el oligómero de alginato directamente a la biopelícula, o administrar el oligómero de alginato a un sujeto con una infección de biopelícula. Se apreciará, por lo tanto, que tanto los métodos *in vitro* como *in vivo* están incluidos.

50 Más particularmente, la biopelícula se pondrá en contacto con una cantidad eficaz del oligómero de alginato, más particularmente una cantidad del oligómero de alginato eficaz para combatir la biopelícula.

55 Como se ha indicado anteriormente, un oligómero de alginato contiene (o comprende) residuos o unidades de guluronato o ácido gulurónico (G) y/o manuronato o ácido manurónico (M). Un oligómero de alginato de acuerdo con la invención preferiblemente estará compuesto únicamente, o sustancialmente únicamente (esto es, consistirá esencialmente en) residuos de ácido urónico/uronato, más particularmente únicamente o sustancialmente únicamente residuos de G y/o M. Como alternativa se expresa, en el oligómero de alginato de uso en la presente invención, al menos 80%, más particularmente al menos 85, 90, 95 o 99% de los residuos de monómeros pueden ser residuos de uronato/ácido urónico, o, más particularmente residuos G y/o M. En otras palabras, preferiblemente el oligómero de alginato no comprenderá otros residuos o unidades (por ejemplo, otros residuos de sacáridos, o más particularmente otros residuos de ácido urónico/uronato).

60 El oligómero de alginato es preferiblemente un oligómero lineal.

65 Como ya se ha indicado, un oligómero de alginato para uso de acuerdo con la presente invención contiene al menos 70% residuos de G (esto es, al menos 70% de los residuos de monómeros del oligómero de alginato serán residuos G). De este modo, realizaciones específicas incluyen oligómeros de alginato con (por ejemplo, que contienen) 70 a 100% residuos de G (guluronato).

Preferiblemente al menos 75%, incluso más particularmente al menos 80, 85, 95 o 99% de los residuos de monómero son guluronato. En una realización, el oligómero de alginato puede ser un oligoguluronato (esto es, un homo-oligómero de G o 100% de G)

5 En una realización preferida adicional, los alginatos anteriormente descritos de la invención tienen una estructura primaria en donde la mayoría de los residuos G están en los llamados bloques G. Preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 70 o 75%, y más preferiblemente al menos 80, 85, 90 o 95% de los residuos G individuales están en bloques G. Un bloque G es una secuencia contigua de al menos dos residuos G, preferiblemente al menos 3 residuos G contiguos, más preferiblemente al menos 4 o 5 residuos G contiguos, más
10 preferiblemente al menos 7 residuos G contiguos.

En particular al menos el 90% de los residuos G están unidos en 1-4 con otro residuo G. Más particularmente al menos el 95%, más preferiblemente al menos el 98% y más preferiblemente al menos el 99% de los residuos G del alginato están unidos en 1-4 con otro residuo G.

15 El oligómero de alginato de uso en la invención es preferiblemente un 3- a 35-mer, más preferiblemente un 3- a 28-mer, en particular un 4- a 25-mer, especialmente un 6- a 22-mer, en particular un 8- a 20-mer, especialmente un 10- a 15-mer, por ejemplo, que tiene un peso molecular en el intervalo de 350 a 6400 Dalton o 350 a 6000 Dalton, preferiblemente 550 a 5500 Dalton, preferiblemente 750 a 5000 Dalton, y especialmente 750 a 4500 Dalton.

20 Puede ser un solo compuesto o puede ser una mezcla de compuestos, por ejemplo, de un intervalo de grados de polimerización. Como se ha indicado anteriormente, los residuos monoméricos en el oligómero de alginato pueden ser iguales o diferentes y no todos necesitan llevar grupos cargados eléctricamente, aunque se prefiere que la mayoría sí (por ejemplo, al menos 60%, preferiblemente al menos 80%, más preferiblemente al menos 90 %). Se prefiere que una mayoría sustancial, por ejemplo, al menos 80%, más preferiblemente al menos 90% de los grupos cargados tienen la misma polaridad. En el oligómero de alginato, la relación de grupos hidroxilo a grupos cargados es preferiblemente al menos 2:1, más especialmente al menos 3:1.

30 El oligómero de alginato de la invención puede tener un grado de polimerización (DP), o un grado medio de polimerización (DP_n), de 3-28, 4-25, 6-22, 8-20 o 10-15, o 5 a 18 o 7 a 15 u 8 a 12, especialmente 10.

La distribución del peso molecular es preferiblemente de tal manera que no más de 5% mol tiene un DP de dos más alto que el límite superior relevante para DP_n . De la misma manera, se prefiere que no más de 5% mol tenga un DP por debajo de un número dos más pequeño que el límite inferior relevante para DP_n . Los oligómeros de alginato apropiados se describen en WO2007/039754, WO2007/039760 y WO 2008/125828.

35 Los oligómeros de alginato apropiados 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 no más de 0.20, y al menos 95 % mol de DP no más de 25.

40 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferiblemente 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 no más de 0.15 (preferiblemente no más de 0.10), y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 17 (preferiblemente inferior a 14).

45 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización en el intervalo de 5 a 18 (especialmente 7 a 15), una fracción de guluronato/galacturonato (F_G) de al menos 0.80 (preferiblemente al menos 0.85, especialmente al menos 0.92), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0.20 (preferiblemente no más de 0.15, especialmente no más de 0.08), y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 20 (preferiblemente inferior a 17).

50 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización 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 no más de 0.08, y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 20.

55 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización en el intervalo de 5 a 18 (preferiblemente 7 a 15, más preferiblemente 8 a 12, especialmente 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, especialmente al menos 0.92, más especialmente al menos 0.95), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0.20 (preferiblemente no más de 0.15, más preferiblemente no más de 0.10, especialmente no más de 0.08, más especialmente no más de 0.05), y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 20 (preferiblemente inferior a 17, más preferiblemente inferior a 14).

60 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización en el intervalo de 7 a 15 (preferiblemente 8 a 12), una fracción de guluronato/galacturonato (F_G) de al menos 0.92 (preferiblemente al menos
65

0.95), una fracción de manuronato (F_M) de no más de 0.08 (preferiblemente no más de 0.05), y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 17 (preferiblemente inferior a 14).

5 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización 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 no más de 0.20, y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 20.

10 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización 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 no más de 0.15, y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 17.

15 Otros oligómeros de alginato apropiados tienen un grado medio de polimerización 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 no más de 0.08, y que tiene al menos 95% mol con un grado de polimerización inferior a 17.

20 El oligómero de alginato llevará por lo general una carga y por lo tanto los contraiones para el oligómero de alginato pueden ser cualquier ion fisiológicamente tolerable, especialmente aquellos comúnmente utilizados para sustancias farmacéuticas cargadas, por ejemplo, sodio, potasio, amonio, cloruro, mesilato, meglumina, etc. Los iones que promueven la gelificación de alginato por ejemplo, también se pueden utilizar iones metálicos del grupo 2.

25 Aunque el oligómero de alginato puede ser un material sintético generado a partir de la polimerización de números apropiados de residuos de guluronato y manuronato, los oligómeros de alginato de uso en la invención se pueden obtener, producir o derivar convenientemente a partir de fuentes naturales tales como las mencionadas anteriormente, a saber, materiales de fuente de alginato natural.

30 La escisión de polisacárido a oligosacárido para producir el oligómero de alginato utilizable de acuerdo con la presente invención se puede realizar usando técnicas de lisis de polisacáridos convencionales tales como digestión enzimática e hidrólisis ácida. Los oligómeros se pueden separar después de los productos de descomposición de polisacáridos cromatográficamente utilizando una resina de intercambio iónico o mediante precipitación fraccionada o solubilización o filtración. US 6,121,441 y WO 2008/125828, que se incorporan explícitamente en este documento por referencia en su totalidad, describen un proceso apropiado para preparar los oligómeros de alginato de uso en la invención. Se puede encontrar más información y discusión en, por ejemplo, en "Handbooks of Hydrocolloids", Ed. Phillips and Williams, CRC, Boca Ratón, Florida, Estados Unidos, 2000.

35 Los oligómeros de alginato también pueden ser modificados químicamente, incluyendo, pero sin limitarse a la modificación para adicionar grupos cargados (tales como glicanos carboxilados o carboximetilados) y oligómeros de alginato modificados para alterar la flexibilidad (por ejemplo, mediante oxidación con peryodato).

40 Los oligómeros de alginato (por ejemplo, ácidos oligogulurónicos) apropiados para uso de acuerdo con la invención se pueden producir convenientemente mediante hidrólisis ácida de ácido algínico, pero sin limitarse a *Laminaria hyperbora* y *Lessonia nigrescens*, disolución a pH neutro, la adición de ácido mineral reduce el pH a 3.4 para precipitar el oligómero de alginato (ácido oligogulurónico), lavado con ácido débil, resuspensión a pH neutro y liofilización.

45 Los alginatos para la producción de oligómeros de alginato de la invención también se pueden obtener directamente de fuentes bacterianas apropiados, por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa* o *Azotobacter vinelandii*, aunque se espera que las fuentes de algas sean las más apropiados debido al hecho de que los alginatos producidos en estos organismos tienden a tener estructuras primarias en las que la mayor parte de los residuos G están dispuestos en bloques G más que como residuos únicos.

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

55 El contenido de G de alginatos (por ejemplo, un material de fuente de alginato) se puede aumentar por epimerización, por ejemplo, con manurano C-5 epimerasas de *A. vinelandii* u otras enzimas epimerasa. De este modo, por ejemplo, se puede llevar a cabo la epimerización *in vitro* con epimerasas aisladas de *Pseudomonas* o *Azotobacter*, por ejemplo, AlgG de *Pseudomonas fluorescens* o *Azotobacter vinelandii* o las enzimas AlgE (AlgE1 a AlgE7) de *Azotobacter vinelandii*. También se contempla específicamente el uso de epimerasas de otros organismos que tienen la capacidad de producir alginato, particularmente algas. La epimerización *in vitro* de los alginatos G bajos con las epimerasas AlgE de *Azotobacter vinelandii* se describe con detalle en Ertesvåg et al (supra) y Strugala et al (Gums and Stabilisers for the Food Industry, 2004, 12, The Royal Society of Chemistry, 84-94). Se prefiere la epimerización con una o más epimerasas AlgE de *Azotobacter vinelandii* distintas de AlgE4, ya que estas enzimas son capaces de producir estructuras de bloque G. Versiones mutadas u homólogos de otros organismos también se

contemplan específicamente como de uso. WO 94/09124 describe enzimas de manuronano C-5 epimerasa recombinantes o modificadas (enzimas AlgE) por ejemplo, codificadas por secuencias de epimerasa en las que las secuencias de ADN que codifican los diferentes dominios o módulos de las epimerasas han sido apartadas o eliminadas y recombinadas. Alternativamente, se pueden utilizar mutantes de enzimas de epimerasa (AlgG o AlgE) de origen natural, obtenidos, por ejemplo, mediante mutagénesis dirigida o aleatoria de los genes de AlgG o AlgE.

Un enfoque diferente es crear organismos de *Pseudomonas* y *Azotobacter* que están mutados en algunos o todos sus genes de epimerasa de tal manera que dichos mutantes producen alginatos de la estructura requerida de producción de oligómeros de alginato, o incluso oligómeros de alginato de la estructura y tamaño (o peso molecular) requeridos. La generación de un número de organismos de *Pseudomonas fluorescens* con genes de AlgG mutados se describe con detalle en WO 2004/011628 y Gimmestad, M., *et al*, 2003 (*supra*). La generación de un número de organismos de *Azotobacter vinelandii* con genes de AlgE mutados se describe en Gimmestad, M., *et al*, 2006 (*supra*). El experto en la materia podría utilizar esta enseñanza para producir nuevos mutantes que producirían oligómeros de alginato de la invención sin carga indebida.

Un enfoque adicional es eliminar o inactivar los genes endógenos de epimerasa de un organismo de *Azotobacter* o de *Pseudomonas* y luego introducir uno o más genes exógenos de epimerasa, que pueden o no pueden mutarse (esto es, pueden ser de tipo salvaje o modificados) y cuya expresión se puede controlar, por ejemplo, mediante el uso de promotores inducibles u otros "promotores controlables". Seleccionando combinaciones apropiadas de genes, se pueden producir alginatos de estructura primaria predeterminada.

Incluso un enfoque adicional sería introducir una parte o la totalidad de la maquinaria de biosíntesis de alginato de *Pseudomonas* y/o *Azotobacter* en un organismo no productor de alginato (por ejemplo, *E. coli*) e inducir la producción de alginato a partir de estos organismos genéticamente modificados.

Cuando se utilizan estos sistemas basados en cultivo, la estructura primaria del alginato u oligómero de alginato puede estar influenciada por las condiciones de cultivo. Está dentro de las capacidades del experto en la materia ajustar parámetros de cultivo tales como 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.

Las referencias a "residuos G/G" y "residuos M/M" o a ácido gulurónico o ácido manurónico o guluronato o manuronato se han de leer indistintamente como referencias al ácido gulurónico/guluronato y ácido manurónico/manuronato (específicamente ácido α -L-gulurónico/guluronato y ácido β -D-mannurónico/manuronato), e incluyen además derivados de los mismos en los que uno o más grupos o cadenas laterales disponibles se han modificado sin que se obtenga una actividad antibiopelícula que sea sustancialmente inferior a la del polímero no modificado. Los grupos modificadores de sacáridos comunes incluirían grupos acetilo, sulfato, amino, desoxi, alcohol, aldehído, cetona, éster y anhídrido. Los oligómeros de alginato también se pueden modificar químicamente para adicionar grupos cargados (tales como glicanos carboxilados o carboximetilados), y para alterar la flexibilidad (por ejemplo, mediante oxidación con peryodato). El experto en la materia conocería otras modificaciones químicas que se pueden hacer a las subunidades monosacárido de oligosacáridos y estas se pueden aplicar a los alginatos de la invención.

Por "biopelícula" se entiende una comunidad de microorganismos caracterizados por un predominio de células sésiles que están unidas a un sustrato o interfase o entre sí, (algunas células móviles también pueden estar presentes) y que están incrustadas en una matriz de polímeros extracelulares (más específicamente polímeros extracelulares que han producido) caracterizados porque los microorganismos de esta colonia presentan un fenotipo alterado con respecto a la velocidad de crecimiento y la transcripción génica (por ejemplo, en comparación con su "no biopelícula" o contrapartida flotante libre o planctónicas).

El término "lucha contra biopelícula" se utiliza ampliamente en este documento para incluir cualquier efecto en la interrupción, reducción o descomposición de una biopelícula (esto es, "ataque" a una biopelícula existente) o de hacerlo más susceptible al efecto de un agente antimicrobiano o una respuesta inmune del huésped, así como inhibir, reducir o retrasar la formación de una biopelícula. De este modo, "lucha contra" incluye cualquier tratamiento de una biopelícula que tenga un efecto negativo sobre la biopelícula.

De este modo, la "lucha contra la biopelícula" incluye medidas o tratamientos reaccionarios. Por lo tanto, la lucha contra la biopelícula abarca la eliminación de una biopelícula, una reducción del tamaño de la biopelícula, una reducción del número de microbios en una colonia de biopelícula, una reducción o el cese de la tasa de crecimiento de una biopelícula, una reducción o el cese de la tasa de expansión del número de microbios en una colonia de biopelícula, una reducción de la integridad física de una biopelícula, un aumento de la sensibilidad de los microbios en una colonia de biopelículas a un agente antimicrobiano o mecanismo de defensa inmune del huésped y un aumento de la permeabilidad de una biopelícula a un agente antimicrobiano o mecanismo de defensa inmune del huésped.

De este modo, los oligómeros de alginato de la invención se pueden utilizar clínicamente, por ejemplo, en el tratamiento de una infección de biopelícula, o se pueden utilizar en la limpieza o descontaminación de cualquier superficie, por ejemplo, de una superficie comercial o industrial.

5 El tamaño, la estructura, la integridad y el número de microorganismos en una biopelícula se pueden analizar por cualquier método conveniente. Por ejemplo, la microscopía electrónica de barrido y transmisión se utiliza a menudo para evaluar el tamaño, la integridad y la estructura de una biopelícula. La tinción histoquímica de los microorganismos y/o de los componentes de la matriz extracelular es también rutinaria (por ejemplo, colorante BODIPY™ 630/650-X SE para componentes de matriz de biopelículas de *Pseudomonas* y colorante FM™ 1-43 para membranas celulares de *Pseudomonas*) y se pueden utilizar para evaluar números de microbios y estructura e integridad de la biopelícula visualmente o con ayuda de dispositivos de clasificación de células, microscopios confocales o microscopios de epifluorescencia. El ensayo MBEC, Moskowitz SM, et al (2004) J Clin Microbiol, 42: 1915-1922 y descrito con más detalle en los ejemplos se pueden utilizar para evaluar la sensibilidad de microorganismos en una biopelícula a un agente antimicrobiano. Donlan and Costerton, 2002, Clin. Mic. Rev., Vol 15(2), 167-193 proporciona ejemplos adicionales.

Las biopelículas que pueden ser combatidas de acuerdo con la invención no están limitadas en términos de los microorganismos en las biopelículas ya que el oligómero de alginato de la invención, *inter alia*, se dirige a la matriz extracelular. De acuerdo con lo anterior, la biopelícula puede comprender cualquier clase, género o especie de microorganismo, a saber, cualquier microorganismo que pueda formar una biopelícula. Tales microorganismos incluyen por lo general bacterias, incluyendo cualquier género o especie de bacterias. De este modo, las bacterias pueden ser gram positivas o gram negativas, o no sensible a la prueba de gram. Estas pueden ser aerobias o anaerobias. Las bacterias pueden ser patógenas o no patógenas, o bacterias deteriorantes o indicadoras. Ejemplos de géneros o especies de bacterias incluyen, pero no se limitan a, *Abiotrophia*, *Achromobacter*, *Acidaminococcus*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Actinobaculum*, *Actinomadura*, *Actinomyces*, *Aerococcus*, *Aeromonas*, *Afiopia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alliococcus*, *Alteromonas*, *Amycolata*, *Amycolatopsis*, *Anaerobiospirillum*, *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*, *Chryseobacterium*, *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*, *Shewanella*, *Shigella*, *Simkania*, *Slackia*, *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Spirillum*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Stomatococcus*, *Streptobacillus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Succinivibrio*, *Sutterella*, *Suttonella*, *Tatumella*, *Tissierella*, *Trabulsiiella*, *Treponema*, *Tropheryma*, *Tsakamuraella*, *Turicella*, *Ureaplasma*, *Vagococcus*, *Veillonella*, *Vibrio*, *Weeksella*, *Wolinella*, *Xanthomonas*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, y *Yokenella*; por ejemplo, bacterias gram positivas tales como, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. typhimurium*, *M. bovis* strain BCG, BCG substrains, *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*, y *Enterococcus* species y bacterias gram negativas tales como *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella typhi*, *Brucella abortus*, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *E. hirae*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei*, *Francisella tularensis*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Cowdria ruminantium*.

60 Así, a modo de ejemplo representativo, la biopelícula puede contener bacterias del género *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Fusobacterium* u otras bacterias entéricas o coliformes.

65 Las biopelículas también pueden contener hongos, incluyendo, por ejemplo, de los géneros *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*, *Penicillium* y *Fusarium*. Las especies de hongos representativas incluyen, pero no se limitan a,

Candida albicans, Candida dubliniensis, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Aspergillus fumigatus, Coccidioides immitis, Paracoccidioides brasiliensis, Blastomyces dermatidis, Pneumocystis carinii, Penicillium marneffeii, Alternaria alternata.

5 También pueden estar contenidas en una biopelícula algas y especies representativas de algas incluyen *Chaetophora, Chlorella protothecoides, Coleochaete scutata, Coleochaete soluta, Cyanidioschyzon merolae* *Aphanochaete, Gloeotaenium, Oedogonium, Oocystis, Oscillatoria, Paradoxia multisititia, Phormidium, Chroococcus, Aphanothece, Fragilaria, Cocconeis, Navicula, Cymbella, Phaeodactylum*, así como cianobacterias (algas verdes-azuladas) y diatomeas tales como *Nitzschia palea*.

10 Las biopelículas también pueden contener otros organismos tales como, por ejemplo, parásitos, por ejemplo, protozoos tales como especies de *Toxoplasma*, por ejemplo, *Toxoplasma gondii*, especies de *Plasmodium* tales como *Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae. Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi*, especies de *Leishmania* tales como *Leishmania major, Schistosoma* tales como *Schistosoma mansoni* y *Entamoeba histolytica*.

15 Es común que una biopelícula comprenda una colonia mixta de microorganismos y por lo tanto la biopelícula combatida por los oligómeros de alginato de acuerdo con la invención pueden comprender cualquier número de las especies mencionadas anteriormente. Preferiblemente al menos dos, más preferiblemente al menos 5 y más preferiblemente al menos 10.

20 Preferiblemente, la colonia de biopelícula comprende microbios de al menos uno de los siguientes géneros: *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Serratia, Yersinia, Peptostreptococcus, Bacteroides, Pseudomonas, Legionella, Staphylococcus, Enterococcus, Streptococcus, Klebsiella, Candida, Proteus, Burkholderia, Fusobacterium* y *Mycobacterium*, por ejemplo, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Legionella pneumophila, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia* y *Streptococcus Pyogenes*.

30 Como se ha indicado anteriormente, la biopelícula puede estar presente sobre una superficie. La superficie no está limitada e incluye cualquier superficie sobre la cual pueda ocurrir un microorganismo, particularmente, como se ha indicado anteriormente, una superficie expuesta al agua o a la humedad. La superficie puede ser biótica o abiótica, y las superficies inanimadas (o abióticas) incluyen cualquier superficie que pueda estar expuesta a contacto microbiano o contaminación. De este modo, se incluyen particularmente superficies sobre maquinaria, especialmente maquinaria industrial, o cualquier superficie expuesta a un medio acuático (por ejemplo, equipo marino, barcos o botes o sus partes o componentes), o cualquier superficie expuesta a cualquier parte del medio ambiente, por ejemplo, tuberías o en edificios. Tales superficies inanimadas expuestas a contacto microbiano o contaminación incluyen en particular cualquier parte de: maquinaria o equipo de procesamiento, preparación, almacenamiento o dispensación de alimentos o bebidas, aparatos de aire acondicionado, maquinaria industrial, por ejemplo, en plantas de procesamiento químico o biotecnológico, tanques de almacenamiento y equipo médico o quirúrgico. Cualquier aparato o equipo para llevar o transportar o entregar materiales que puedan estar expuestos al agua o a la humedad es susceptible a la formación de biopelícula. Dichas superficies incluirán particularmente tubos (cuyo término se utiliza ampliamente en este documento para incluir cualquier conducto o línea). Las superficies inanimadas o abióticas representativas incluyen, pero no se limitan a, equipos o superficies de procesamiento, almacenamiento, dispensación o preparación de alimentos, tanques, transportadores, pisos, desagües, enfriadores, congeladores, superficies de equipos, paredes, válvulas, correas, tuberías, conductos de aire acondicionado, aparatos de refrigeración, líneas de dispensación de alimentos o bebidas, intercambiadores de calor, cascos de barcos o cualquier parte de la estructura de un barco que esté expuesta al agua, líneas de agua dentales, conductos de perforación de petróleo, lentes de contacto y cajas de almacenamiento. Como se ha indicado anteriormente, el equipo o los dispositivos médicos o quirúrgicos representan una clase particular de superficie sobre la que puede formarse una biopelícula. Esto puede incluir cualquier tipo de línea, incluyendo catéteres (por ejemplo, catéteres venosos y urinarios centrales), dispositivos protésicos, por ejemplo, válvulas cardíacas, articulaciones artificiales, dientes postizos, coronas dentales, tapas dentales e implantes de tejidos blandos (por ejemplo, implantes de senos, glúteos y labios). Se incluye cualquier tipo de dispositivo médico implantable (o "en la vivienda") (por ejemplo, stents, dispositivos intrauterinos, marcapasos, tubos de intubación, prótesis o dispositivos protésicos, mangueras o catéteres). Un dispositivo médico "en la vivienda" puede incluir un dispositivo en el que cualquier parte de la misma está contenida dentro del cuerpo, esto es, el dispositivo puede estar total o parcialmente en la vivienda.

55 La superficie puede estar hecha de cualquier material. Por ejemplo, puede ser de metal, por ejemplo, aluminio, acero, acero inoxidable, cromo, titanio, hierro, aleaciones de los mismos y similares. La superficie también puede ser de plástico, por ejemplo, poliolefina (por ejemplo, polietileno, polietileno (peso molecular ultra-alto), polipropileno, poliestireno, poli(met)acrilato, acrilonitrilo, butadieno, ABS, acrilonitrilo butadieno, etc.), poliéster (por ejemplo, tereftalato de polietileno, etc.), y poliamida (por ejemplo, nylon), combinaciones de los mismos y similares. Otros ejemplos incluyen copolímero de acetal, polifenilsulfona, polisulfona, politermida, policarbonato, polietertercetona, fluoruro de polivinilideno, poli(metacrilato de metilo) y poli(tetrafluoroetileno). La superficie también puede ser de ladrillo, azulejo, cerámica, porcelana, madera, vinilo, linóleo o alfombra, combinaciones de los mismos y similares. Las superficies también pueden ser alimentos, por ejemplo, carne de res, aves de corral, cerdo, verduras, frutas, pescado, mariscos, combinaciones de los mismos y similares.

Una superficie biótica o animada puede incluir cualquier superficie o interfase dentro o sobre el cuerpo. De acuerdo con lo anterior, tal como se ha indicado anteriormente, puede considerarse una superficie "fisiológica" o "biológica". Puede ser cualquier superficie corporal interna o externa, incluyendo cualquier tejido, que puede incluir tejido hematológico o hematopoyético (por ejemplo, sangre). Como se ha expuesto anteriormente, el tejido muerto o moribundo (por ejemplo, necrótico) o dañado (por ejemplo, inflamado o deteriorado o roto) es particularmente susceptible al crecimiento de biopelícula y tal tejido está comprendido 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, ninguna superficie en la cavidad oral, por ejemplo, dientes, encías, grieta gingival, bolsa periodontal, tracto reproductivo (por ejemplo, cuello del útero, útero, trompas de falopio), el peritoneo, el oído medio, la próstata, el tracto urinario, la íntima vascular, la conjuntiva, el tejido corneal, el tracto respiratorio, el tejido pulmonar (bronquial y alveolar), las válvulas cardíacas, el tracto gastrointestinal, la piel, el cuero cabelludo, las uñas y el interior de las heridas, particularmente las heridas crónicas, que pueden ser heridas tóxicas o internas.

En un aspecto, la superficie no será mucosa, o más particularmente no tendrá un recubrimiento de moco hiperviscoso. El experto en la materia será capaz de determinar cuando la mucosa en una superficie dada es hiperviscosa. En una realización, la superficie no será la superficie de un tejido secretor de mucosas. Más particularmente, en dicha realización, la superficie no será la superficie de un tejido recubierto de mucosa. El experto conocerá por su conocimiento general común los tejidos que segregan mucosas y los que están recubiertos de mucosas.

De acuerdo con lo anterior, se observará que la invención proporciona usos médicos de los oligómeros de alginato como se definen en este documento, para el tratamiento de una infección de biopelícula presente en un sujeto (por ejemplo, infección de biopelícula con cualquier microorganismo, incluyendo bacterias, virus, hongos o parásitos tales como protozoos). La infección puede ser una infección patógena. Los ejemplos representativos de microorganismos que pueden causar infección se describen anteriormente. Las infecciones causadas por *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Serratia*, *Yersinia*, *Peptostreptococcus*, *Bacteriodes*, *Pseudomonas*, *Legionella*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Candida*, *Proteus*, *Burkholderia*, *Fusobacterium* y *Mycobacterium*, por ejemplo, se destacan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Legionella pneumophila*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* y *Streptococcus Pyogenes*. Infecciones causadas por y *Pseudomonas*, por ejemplo, son de particular importancia las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*.

El término "en un sujeto" se utiliza ampliamente en este documento para incluir la infección de biopelícula que se produce dentro de un sujeto o sobre un sujeto, por ejemplo, en una superficie corporal externa. La infección de biopelícula puede ser crónica (esto es, puede ser una infección crónica de biopelícula), por ejemplo, una infección que ha persistido durante al menos 5 o al menos 10 días, en particular al menos 20 días, más particularmente al menos 30 días, más particularmente al menos 40 días. Las infecciones crónicas a menudo se manifiestan como infecciones de biopelícula, pero una infección de biopelícula no tiene por qué ser una infección crónica como se define en este documento.

En este aspecto de la invención, la infección de biopelícula se puede producir en una superficie en o sobre el sujeto (esto es, una superficie biótica como se ha discutido anteriormente) y/o una superficie de un dispositivo médico, particularmente un implante o dispositivo médico "en la vivienda".

El sujeto puede ser cualquier sujeto humano o animal no humano, pero más particularmente puede ser un vertebrado, por ejemplo, un sujeto mamífero, un sujeto aviar, un pez o un reptil. Se prefieren los sujetos humanos, pero el sujeto puede ser, por ejemplo, cualquier ganado o animal doméstico, o, por ejemplo, un animal en un zoológico. De este modo, los animales representativos incluyen perros, gatos, conejos, ratones, cobayas, hámsteres, caballos, cerdos, ovejas, cabras, vacas, aves y peces. Los usos veterinarios de la invención de este modo están cubiertos. El sujeto puede ser visto como un paciente.

Una infección de biopelícula puede ocurrir en cualquier sujeto, pero algunos sujetos serán más susceptibles a la infección que otros. Los sujetos que son susceptibles a la infección de biopelícula incluyen, pero no se limitan a, sujetos cuya barrera epitelial y/o endotelial está debilitada o comprometida, sujetos cuyas defensas basadas en secreción a infección de microorganismos han sido abrogadas, dislocadas, debilitadas o socavadas y sujetos que están inmunocomprometidos, inmunodeficientes o inmunosuprimidos (esto es, un sujeto en el que cualquier parte del sistema inmune no está funcionando normalmente, o está funcionando de forma subnormal, en otras palabras, en el que se reduce o perjudica cualquier parte de la respuesta inmune o una actividad inmune, ya sea debido a enfermedad o intervención clínica u otro tratamiento, o de cualquier manera).

Ejemplos representativos de sujetos que son susceptibles a la infección de biopelícula incluyen, pero no se limitan a, sujetos con una infección preestablecida (por ejemplo, con bacterias, virus, hongos o parásitos tales como protozoos), especialmente sujetos con HIV, sujetos con sepsis y sujetos con shock séptico; sujetos con inmunodeficiencia, por ejemplo, sujetos que se preparan para someterse o recuperarse de quimioterapia y/o

radioterapia, órganos (por ejemplo, médula ósea, hígado, pulmón, corazón, válvula cardíaca, riñón, etc.) sujetos trasplantados (incluidos pacientes con autoinjerto, aloinjerto y xenoinjerto), sujetos con AIDS; sujetos residentes en una institución de salud, por ejemplo, hospital, especialmente los sujetos en cuidados intensivos o cuidados críticos (esto es, las unidades que se ocupan de la provisión de apoyo vital o de sistemas de apoyo a órganos a los pacientes); sujetos que sufren de trauma; sujetos con quemaduras, sujetos con heridas agudas y/o crónicas; sujetos neonatos; sujetos de edad avanzada; sujetos con cáncer (definidos ampliamente en este documento para incluir cualquier afección neoplásica, maligna o no maligna), especialmente aquellos con cánceres del sistema inmune (por ejemplo, leucemias, linfomas y otros cánceres hematológicos); sujetos que padecen afecciones autoinmunes tales como artritis reumatoide, diabetes mellitus tipo I, enfermedad de Crohn, especialmente aquellos sometidos a tratamiento de inmunosupresión para esas enfermedades; sujetos con secreción epitelial o endotelial reducida o anulada (por ejemplo, mucosas, lágrimas, saliva) y/o eliminación de la secreción (por ejemplo, sujetos con cilios mal funcionales en el tejido mucoso y/o pacientes con mucosa hiperviscosa (por ejemplo, fumadores y sujetos con COPD, bronquitis, fibrosis quística, enfisema, cáncer de pulmón, asma, neumonía o sinusitis) y sujetos equipados con un dispositivo médico.

De este modo, los sujetos en los que las infecciones de biopelícula pueden combatirse particularmente de acuerdo con la presente invención incluyen pacientes que permanecen alterados, ya sea debido a una mala perfusión, un trauma repetitivo, una nutrición deficiente, una pobre oxigenación o una disfunción de los glóbulos blancos.

De particular importancia son los sujetos que han sufrido un trauma físico. El propio trauma puede causar debilitamiento o compromiso de una barrera epitelial y/o endotelial del sujeto o el sujeto puede llegar a ser inmunocomprometido en respuesta al trauma (una respuesta de choque). El término "trauma" se refiere ampliamente al ataque celular por cuerpos extraños y/o daño físico de las células. Entre los cuerpos extraños se incluyen microorganismos, partículas, agentes químicos y similares. Entre las lesiones físicas se incluyen lesiones mecánicas; lesiones térmicas, tales como las que resultan de calor o frío excesivos; lesiones eléctricas, tales como las causadas por el contacto con fuentes de potencial eléctrico; y los daños por radiación causados, por ejemplo, por una exposición extensa y prolongada a radiaciones infrarrojas, ultravioletas o ionizantes.

También de particular importancia son los sujetos que tienen una quemadura. Cualquier quemadura, en particular una quemadura severa, tiene un impacto significativo sobre la integridad de la barrera epitelial y/o endotelial del sujeto y el sujeto a menudo se inmunocompromete en respuesta a la quemadura (una respuesta de choque).

Los agentes causantes de quemaduras típicos son extremos de temperatura (por ejemplo, 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, producen quemaduras de gravedad variable. Se considera que el quemado (esto es, el traumatismo asociado con líquidos y/o gases a alta temperatura) es una quemadura.

La gravedad de la quemadura epidérmica se clasifica habitualmente de dos maneras. Lo más común es la clasificación por grado. Las quemaduras de primer grado generalmente se limitan al eritema (enrojecimiento) en el área general de la lesión y a una placa blanca en el sitio de la lesión. El trauma celular de estas quemaduras se extiende sólo tan profundo como la epidermis. Las quemaduras de segundo grado también muestran eritema en el área general de la lesión, pero con ampollas superficiales de la epidermis. El trauma celular de las quemaduras de segundo grado involucra la dermis superficial (papilar) y puede también implicar la capa profunda (reticular) de la dermis. Las quemaduras de tercer grado son aquellas en las que se pierde la epidermis con daño a la hipodermis. Los daños suelen ser extremos, incluyendo la calcinación. A veces la escara, (tejido seco necrótico negro) estará presente. Las quemaduras de tercer grado pueden requerir injerto. En quemaduras de cuarto grado se produce un daño catastrófico de la hipodermis, por ejemplo, la hipodermis se pierde completa, con daños que se extienden hasta el músculo subyacente, el tendón y el tejido del ligamento. Se observan calcinaciones y escaras. El injerto es necesario si la quemadura no resulta fatal.

Otro sistema de clasificación común es la clasificación por espesor. Las quemaduras de "espesor superficial" corresponden a quemaduras de primer grado. El espectro de quemaduras de segundo grado está cubierto por dos clases de quemaduras de "espesor parcial". "Espesor parcial superficial" son quemaduras que afectan la epidermis sólo hasta la dermis papilar. "Espesor parcial profundo" son quemaduras que afectan la dermis hasta la dermis reticular. Las quemaduras de "espesor total" corresponden a quemaduras de tercer y cuarto grado.

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

Las heridas se definen por lo general como ya sean agudas o crónicas. Las heridas agudas son heridas que proceden ordenadamente a través de las tres etapas reconocidas del proceso de cicatrización (esto es, la fase inflamatoria, la fase proliferativa y la fase de remodelación) sin una evolución prolongada. Las heridas crónicas, sin embargo, son aquellas heridas que no completan la secuencia ordenada de eventos bioquímicos del proceso de curación porque la herida se ha estancado en una de las etapas de curación. Comúnmente, las heridas crónicas se

estancan en la fase inflamatoria. De acuerdo con un aspecto particular de la presente invención, una herida crónica es una herida que no ha cicatrizado en al menos 40 días, en particular al menos 50 días, más particularmente al menos 60 días, más particularmente al menos 70 días.

5 Como se ha expuesto anteriormente, las heridas son un entorno ideal para la infección, incluyendo la infección por biopelícula, y particularmente la infección crónica de biopelícula, debido a su falta de una barrera epitelial y la disponibilidad de sustrato y superficie para la colonización y la fijación de biopelícula. Problemáticamente, la infección de una herida retrasa a menudo la curación más aún y de este modo hace que la herida más susceptible a la formación de la biopelícula ya la infección establecida. Los oligómeros de alginato de la invención son por lo tanto
10 eficaces en el tratamiento de la infección por biopelícula de heridas y el tratamiento de heridas crónicas representa un aspecto preferido de la presente invención.

Por lo tanto, en una realización de la invención, se utilizan oligómeros de alginato que tienen al menos 70% residuos de G en el tratamiento de la infección de biopelícula, particularmente la infección crónica de biopelícula, presente en los sujetos antes mencionados, en particular en sujetos con enfermedades o trastornos respiratorias, por ejemplo, fibrosis quística, heridas, quemaduras y/o traumas, comprendiendo dicho tratamiento la administración de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un oligómero de alginato como se define en este documento al sujeto.

En un aspecto de particular importancia, los oligómeros de alginato se pueden utilizar para tratar la infección de biopelícula presente en heridas, por ejemplo, quemaduras, por ejemplo, en el tratamiento de heridas infectadas, por ejemplo, quemaduras.

A través de la capacidad para tratar la infección por biopelícula de heridas, los oligómeros de alginato definidos en este documento pueden eliminar uno de los obstáculos para la cicatrización de heridas y por lo tanto los oligómeros de alginato definidos anteriormente son también eficaces en la promoción de la cicatrización de heridas agudas y crónicas.

Por promoción de la curación se entiende que el tratamiento acelera el proceso de cicatrización de la herida en cuestión (esto es, la progresión de la herida a través de las tres etapas reconocidas del proceso de cicatrización). La aceleración del proceso de cicatrización se puede manifestar como un aumento en la velocidad de progresión a través de una, dos o todas las etapas de cicatrización (esto es, la fase inflamatoria, la fase proliferativa y/o la fase de remodelación). Si la herida es una herida crónica que está estancada en una de las etapas de curación, la aceleración puede manifestarse como el reinicio del proceso de cicatrización lineal y secuencial después del paro. En otras palabras, el tratamiento cambia la herida de un estado no curativo a un estado en el que la herida comienza a progresar a través de las etapas de curación. Esa progresión después del reinicio puede ser a una tasa normal o incluso una tasa más lenta en comparación con la tasa de una herida aguda normal curaría.

Los oligómeros de alginato se pueden utilizar para tratar infecciones de biopelícula dondequiera que puedan ocurrir dentro o sobre el cuerpo. De este modo, en otra realización, la infección de biopelícula puede ser una infección de un dispositivo médico, particularmente un dispositivo médico en la vivienda.

Como se ha indicado anteriormente, las biopelículas se producen en los dientes, por ejemplo, en forma de placa dental. Los oligómeros de alginato se pueden utilizar de acuerdo con la presente invención como agentes orales para el cuidado de la salud, por ejemplo, en el control de la placa dental, por ejemplo, para eliminarlo, o reducirlo o para reducir o retrasar su desarrollo. También se pueden utilizar en el tratamiento de infecciones o enfermedades infecciosas que se pueden producir en la cavidad oral, por ejemplo, gingivitis y periodontitis.

Aunque, como se ha indicado anteriormente, el tratamiento de las infecciones de biopelícula de los pulmones y el tracto respiratorio y todas las áreas del cuerpo está generalmente cubierto por la presente invención, en una realización, los usos médicos de la invención no están dirigidos al tratamiento de (i) biopelículas en el tracto respiratorio de pacientes con COPD (enfermedades pulmonares obstructivas crónicas), en particular los senos y pulmones, en particular en el tratamiento de la fibrosis quística, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el enfisema, la bronquitis y la sinusitis; (ii) en el oído medio de pacientes que sufren de otitis media serosa; o (iii) en el tracto reproductivo de pacientes mujeres con insuficiencia de la fertilidad; o (iv) en el tracto digestivo de pacientes con disfunción del tracto digestivo (por ejemplo, estreñimiento).

En realizaciones específicas de la invención, los oligómeros de alginato se pueden utilizar en el tratamiento de endocarditis nativa de la válvula, otitis media aguda, prostatitis bacteriana crónica, neumonía, placa dental, periodontitis, infecciones de biopelícula en enfermedades respiratorias, que pueden incluir fibrosis quística y asma, e infección relacionada con el dispositivo asociada con dispositivos médicos implantables o protésicos, por ejemplo, endocarditis de prótesis valvular o infección de mangueras o catéteres o articulaciones artificiales o reemplazos de tejidos.

Una cantidad "farmacéuticamente eficaz" del alginato es la cantidad de alginato que proporciona un efecto medible sobre la biopelícula dirigida (como se define anteriormente) y/o un efecto medible sobre la afección que se está dirigiendo. Esta cantidad se puede determinar con referencia a las prácticas estándar para decidir las cantidades de

dosificación y el experto podrá detectar evidencia de tratamiento exitoso a partir de su experiencia y con la ayuda de pruebas de rutina disponibles para él que están diseñadas para monitorizar el tamaño, estructura, integridad y número de colonias (por ejemplo, los descritos anteriormente) y pruebas diseñadas para monitorear la afección diana.

5 Las dosis apropiadas de oligómero de alginato variarán de sujeto a sujeto y pueden ser determinadas por el médico o veterinario de acuerdo con el peso, la edad y el sexo del sujeto, la gravedad de la afección, el modo de administración y también el oligómero de alginato seleccionado. Por lo general, los oligómeros de alginato de la invención se aplicarán a la biopelícula a una concentración local de hasta 10%, preferiblemente hasta 6%, más preferiblemente hasta 4% y más preferiblemente hasta 2%.

15 "Tratamiento" cuando se utiliza en relación con la infección de biopelícula (esto es, en relación con el tratamiento de una afección médica/infección en un sujeto en oposición a cuando se utiliza en relación con la propia biopelícula) se utiliza ampliamente en este documento para incluir cualquier efecto terapéutico, esto es, cualquier efecto beneficioso sobre la afección o en relación con la infección de biopelícula. De este modo, no sólo se incluye la erradicación o eliminación de la infección, o la cura del sujeto o la infección, sino también una mejora en la infección o afección del sujeto. Por ejemplo, de este modo, se incluye una mejora en cualquier síntoma o signo de la infección, o en cualquier indicador clínicamente aceptado de la infección/afección (por ejemplo, una disminución del tamaño de la herida o una aceleración del tiempo de cicatrización). De este modo, el tratamiento incluye tanto terapia curativa como paliativa, por ejemplo, de una infección/afección preexistente o diagnosticada, esto es, un tratamiento reaccionario.

25 "Tratamiento", como se utiliza en este documento, también incluye la limitación o reducción de una afección existente, o uno o más de sus síntomas, por ejemplo, con relación a la afección o síntoma previo al tratamiento. De este modo, el tratamiento incluye explícitamente cualquier demora en el desarrollo de la afección o síntoma existente, o la reducción o limitación del desarrollo o progresión de la afección o síntoma.

30 También se describe cómo los oligómeros de alginato se pueden tomar como tratamiento profiláctico, por ejemplo, para prevenir, o al menos minimizar el riesgo, de infección de biopelícula (por ejemplo, por un patógeno). Esto es de particular utilidad en el cuidado de pacientes hospitalizados como el riesgo de contraer una infección nosocomial (comúnmente conocida como infección relacionada con el hospital/ infección adquirida o infección asociada a la asistencia sanitaria), por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Clostridium difficile*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Enterococcus* resistente a la vancomicina se pueden minimizar con un régimen profiláctico de los oligómeros de alginato definidos en este documento. Esto también es de particular utilidad en el cuidado de sujetos que sufren de trauma, sujetos con quemaduras y sujetos con heridas, todos los cuales, como se discutió anteriormente, son más susceptibles a la infección patógena que un sujeto que no se afecta de manera similar.

40 Generalmente, los sujetos que necesitan tratamiento de acuerdo con la invención serán diagnosticados como sufriendo de la afección diana, o identificados como teniendo una infección de biopelícula.

45 Se describe adicionalmente cómo se pueden tomar los oligómeros de alginato como tratamiento profiláctico para prevenir, o al menos minimizar el riesgo, de desarrollar de una infección de biopelícula, incluyendo por ejemplo, la infección de heridas, endocarditis nativa de válvula, otitis media aguda, prostatitis bacteriana crónica, periodontitis, infecciones de las vías respiratorias y pulmones (por ejemplo, fibrosis quística u otras enfermedades respiratorias, placa dental, neumonía o infección de un dispositivo médico (por ejemplo, en la vivienda).

50 En una realización ventajosa de la invención, los oligómeros de alginato se pueden utilizar conjuntamente o en combinación con un agente antimicrobiano. En el contexto de un uso médico, dicho agente puede ser cualquier agente antimicrobiano clínicamente útil y particularmente un antibiótico. En el contexto de usos no clínicos, el agente antimicrobiano puede ser de nuevo cualquier agente antimicrobiano usado para tales propósitos, por ejemplo, cualquier desinfectante o antiséptico o agente de limpieza o esterilización. Los agentes se pueden utilizar por separado, o juntos en la misma composición, simultánea o secuencialmente o por separado, por ejemplo, en cualquier intervalo de tiempo deseado.

Así, a modo de ejemplo representativo, el agente antimicrobiano se puede utilizar después de los oligómeros de alginato, pero un uso anterior o simultáneo puede ser beneficioso en algunas circunstancias.

60 Se puede utilizar cualquier agente antimicrobiano que ataque al menos uno de los microorganismos en la biopelícula diana. Naturalmente, la elección del agente antimicrobiano será apropiada para la superficie en tratamiento, pero, por ejemplo, los agentes antimicrobianos, por ejemplo, se pueden utilizar antibióticos, antifúngicos, antisépticos y/o condiciones de esterilización tales como extremos de temperatura de irradiación (por ejemplo, UV, rayos X, gamma) y extremos de pH.

65

Los antibióticos representativos incluyen, pero no se limitan a, los aminoglucósidos (por ejemplo, amicacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, troleandomicina); los carbacefem (por ejemplo, loracarbef); las cefalosporinas de primera generación (por ejemplo, cefadroxil, cefazolina, cefalexina); las cefalosporinas de segunda generación (por ejemplo, cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozilo, cefuroxima); las cefalosporinas de tercera generación (por ejemplo, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima, ceftriaxona); las cefalosporinas de cuarta generación (por ejemplo, cefepima); los macrólidos (por ejemplo, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, troleandomicina); las monobactamas (por ejemplo, aztreonam); las penicilinas (por ejemplo, amoxicilina, ampicilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina, ticarcilina); los antibióticos polipeptídicos (por ejemplo, bacitracina, colistina, polimixina B); las quinolonas (por ejemplo, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina) las sulfonamidas (por ejemplo, mafenida, sulfacetamida, sulfametizol, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim sulfametoxazol); las tetraciclinas (por ejemplo, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina); los carbapenemas (por ejemplo, imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem, panipenem/betamipron, biapenem, PZ-601); cloranfenicol; clindamicina, etambutol; fosfomicina; isoniazida; linezolid; metronidazol; nitrofurantoína; pirazinamida; quinupristina/dalfopristina; rifampina; espectinomicina; y vancomicina. Se prefieren los antibióticos vancomicina, tobramicina, meropenem, ciprofloxacina, piperacilina, colistina, aztreonam, ciprofloxacina y azitromicina.

Los antisépticos representativos incluyen, pero no se limitan a, blanqueador de cloro (hipoclorito de sodio), compuestos de amonio cuaternario (por ejemplo, cloruro de benzalconio, bromuro de cetiltrimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio), peróxido de hidrógeno, compuestos de fenol (por ejemplo, TCP), alcoholes, (por ejemplo, etanol), Virkon™, compuestos de yodo (por ejemplo, povidona yodada), compuestos de plata (por ejemplo, nano/micropartículas elementales de plata).

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

El agente antimicrobiano se puede aplicar convenientemente antes, simultáneamente o después del alginato. Convenientemente, el agente antimicrobiano se aplica sustancialmente al mismo tiempo que el alginato o después. Por ejemplo, el agente antimicrobiano se aplica al menos 1 hora, preferiblemente al menos 3 horas, más preferiblemente al menos 5 y más preferiblemente al menos 6 horas después de que se administre el oligómero de alginato. Para optimizar el efecto antimicrobiano del agente antimicrobiano, el agente antimicrobiano se puede administrar (administrado o suministrado) repetidamente en momentos apropiados para el agente utilizado. El experto en la materia será capaz de idear una dosificación o régimen de uso apropiado. En tratamientos a largo plazo, el alginato también se puede utilizar repetidamente. Esto puede ser tan frecuente como el agente antimicrobiano, pero normalmente será menos frecuente. La frecuencia requerida dependerá de la localización de la infección de la biopelícula, la composición de la colonia y el antimicrobiano utilizado y el experto en la materia puede optimizar la dosificación o patrones de uso para optimizar los resultados.

En una realización ventajosa, el agente antimicrobiano se puede utilizar o aplicar después de la eliminación o reducción física (por ejemplo, desbridamiento) de la biopelícula de la superficie.

Después de la eliminación o el intento de eliminar la biopelícula, la superficie puede ponerse en contacto con los oligómeros de alginato durante entre 0 y 24 horas, en particular 2 y 12 horas, más particularmente 4 y 8 horas, más particularmente 5 y 7 horas, por ejemplo, 6 horas. Después de esto, se puede aplicar, si se desea, un agente antimicrobiano. Dicho escenario puede ser deseable o particularmente aplicable en un entorno clínico. En el caso de heridas infectadas con biopelícula, la duración de la incubación se puede diseñar convenientemente para corresponder a cambios programados del apósito para heridas.

La eliminación física de la biopelícula se puede llevar a cabo con cualquier medio quirúrgico, mecánico o químico apropiado. Convenientemente, esto puede ser el uso de un líquido, gel, gel-sol, composiciones semisólidas o gas aplicado a presión a la biopelícula, sonicación, láser o mediante un implemento abrasivo. Una composición utilizada en la propia eliminación o como una solución de lavado antes, durante o después puede contener convenientemente el oligómero de alginato.

De acuerdo con lo anterior, en una realización específica se proporciona una solución acuosa de desbridamiento de heridas estéril o una solución a base de aceite de desbridamiento de heridas estéril que contiene un oligómero de alginato como se define en este documento y que contiene además al menos una enzima proteolítica y/o al menos una fase sólida abrasiva, en donde dicha composición es una solución estéril acuosa o una solución a base de aceite estéril. Las enzimas proteolíticas apropiadas incluyen colagenasa, tripsina, pepsina o elastasa. Las fases sólidas abrasivas apropiadas incluyen sílica coloidal, piedra pómez molida, planta molida o caparazón de animal.

5 El uso en combinación o conjunción con otros agentes de alteración de la biopelícula puede ser beneficioso. Los disruptores de biopelícula incluyen, pero no se limitan a, proteasas, por ejemplo, serina proteasas, metaloproteasas y cisteína proteasas (ejemplos de estos tipos de proteasas se enumeran en EP0590746); nucleasas, por ejemplo, DNasa I y II, RNasa A, H, I, II, III, P, PhyM, R; lipasas y enzimas capaces de degradar polisacáridos, gelsolina, un agente reductor de tiol, una acetilcisteína, un polisacárido no cargado de bajo peso molecular (por ejemplo, dextrano) o un ácido poliamino aniónico (por ejemplo, poli-ASP o poli-GLU).

10 Se puede hacer mención particular de la alginato-liasa, y el uso combinado de esta con un oligómero de alginato como se define en este documento representa una posible realización específica de este aspecto de la invención.

15 El uso en combinación o conjunción con agentes inmunoestimulantes puede ser también beneficioso en el tratamiento de biopelículas en una situación clínica. Estos agentes inmunoestimulantes se pueden utilizar convenientemente en momentos correspondientes a los descritos anteriormente en relación con agentes antimicrobianos y se pueden utilizar opcionalmente en combinación con un oligómero de alginato y un agente antimicrobiano. Los agentes inmunoestimulantes apropiados incluyen, pero no se limitan a, citoquinas, por ejemplo, TNF, IL-1, IL-6, IL-8 y alginatos inmunoestimulantes, tales como alginatos de alto contenido en M como se describe, por ejemplo, en US 5,169,840, WO91/11205 y WO03/045402, pero incluyendo cualquier alginato con propiedades inmunoestimulantes.

20 El uso de los oligómeros de alginato en combinación o conjunción con factores de crecimiento, por ejemplo, PDGF, FGF, EGF, TGF, hGF y enzimas también pueden ser beneficiosos en los usos médicos de la invención. Ejemplos representativos de enzimas apropiadas incluyen, pero no se limitan a proteasas, por ejemplo, serina proteasas, metaloproteasas y cisteína proteasas (ejemplos de estos tipos de proteasas se enumeran en EP0590746); nucleasas, por ejemplo, DNasa I y II, RNasa A, H, I, II, III, P, PhyM, R; lipasas y enzimas capaces de degradar polisacáridos.

30 El uso de los oligómeros de alginato en combinación o conjunción con un agente reductor de la viscosidad de la mucosa fisiológicamente tolerable también podría ser beneficioso, por ejemplo, una enzima de escisión de ácido nucleico (por ejemplo, una DNasa tal como DNasa I), gelsolina, un agente reductor de tiol, una acetilcisteína, cloruro de sodio, un polisacárido no cargado de bajo peso molecular (por ejemplo, dextrano), arginina (u otros precursores de óxido nítrico o estimuladores de síntesis) o un ácido poliamino aniónico (por ejemplo, poli-ASP o poli-GLU). Ambroxol, romhexina, carbocisteína, domiodol, eprazinona, erdosteína, letosteína, mesna, neltexina, sobrerol, estepronina, tiopronina son mucolíticos específicos de referencia. Se prefiere especialmente el uso de una DNasa.

35 Como se discutió anteriormente, los oligómeros de alginato se pueden utilizar opcionalmente con cualquier otro agente terapéuticamente activo que se desee utilizar, por ejemplo, un agente antiinflamatorio. El uso combinado de un oligómero de alginato con un agente terapéuticamente activo adicional (por ejemplo, un agente antimicrobiano o antiinflamatorio) puede permitir ventajosamente que la dosis (por ejemplo, la dosis usual o normal) del agente terapéuticamente activo adicional se reduzca, por ejemplo, se puede utilizar a su dosis normal o habitual o a una dosis inferior, por ejemplo, hasta un 50% (o al 50%) de su dosis normal.

40 La invención abarca el uso de un solo oligómero de alginato o una mezcla (multiplicidad/pluralidad) de diferentes oligómeros de alginato. De este modo, por ejemplo, se puede utilizar una combinación de diferentes oligómeros de alginato (por ejemplo, dos o más).

45 En el caso de uso médico, los alginatos de la invención se pueden administrar al sujeto en cualquier forma conveniente o por cualquier medio conveniente, por ejemplo, Por vía tópica, oral, parenteral, enteral, parenteral o por inhalación. Preferiblemente, el alginato se administrará por vía tópica, oral o parenteral o por inhalación.

50 El experto en la materia será capaz de formular los alginatos de la invención en composiciones farmacéuticas que están adaptadas para estas vías de administración de acuerdo con cualquiera de los métodos convencionales conocidos en la técnica y ampliamente descritos en la bibliografía. Simplemente a título indicativo, los ejemplos 11 y 12 describen dos composiciones posibles (una composición tópica y un líquido de desbridamiento).

55 Por lo tanto, también se proporciona en este documento una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o la prevención de una infección de biopelícula que comprende un oligómero de alginato como se define en este documento junto con al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

60 El ingrediente activo se puede incorporar, opcionalmente junto con otros agentes activos, con uno o más portadores, diluyentes y/o excipientes convencionales, para producir preparaciones galénicas convencionales tales como comprimidos, píldoras, polvos (por ejemplo, polvos inhalables), comprimidos para deshacer en la boca, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (como un sólido o en un medio líquido), aerosoles (por ejemplo, aerosoles nasales), composiciones para uso en nebulizadores ungüentos, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles, polvos envasados estériles y similares.

Ejemplos de portadores, excipientes y diluyentes apropiados son lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma acacia, fosfato de calcio, alginatos inertes, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, jarabe de agua, agua/etanol, agua/glicol, agua/polietileno, agua salina hipertónica, glicol, propilenglicol, metilcelulosa, metilhidroxibenzoatos, propilhidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio, aceite mineral o sustancias grasas tales como grasa dura o mezclas apropiadas de los mismos. Los excipientes y diluyentes preferidos son manitol y agua salina hipertónica (solución salina).

Las composiciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes y similares.

Como se ha discutido anteriormente, los oligómeros de alginato propuestos para uso de acuerdo con la invención se pueden utilizar en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo, para ser administrados juntos, en una sola formulación o composición farmacéutica, o por separado (esto es, para una administración separada, secuencial o simultánea). De este modo, los alginatos de la invención se pueden combinar con un segundo (o adicional) agente terapéuticamente activo, por ejemplo, en un kit farmacéutico o como un producto combinado ("combinación").

De este modo, un aspecto adicional de la presente invención proporciona un producto que contiene un oligómero de alginato como se define en este documento y un segundo agente activo como una preparación combinada para uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento de una infección de biopelícula presente en un sujeto.

Se pueden incluir agentes terapéuticamente activos adicionales en las composiciones farmacéuticas, como se discutió en relación con las terapias de combinación anteriores.

Las formas administrables por vía parenteral, por ejemplo, soluciones intravenosas, deben ser estériles y libres de agentes fisiológicamente inaceptables, y deben tener baja osmolaridad para minimizar la irritación u otros efectos adversos sobre la administración y de este modo las soluciones deben preferiblemente ser isotónicas o ligeramente hipertónicas, por ejemplo, agua salina hipertónica (solución salina). Los vehículos apropiados incluyen vehículos acuosos utilizados habitualmente para administrar soluciones parenterales tales como inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de cloruro sodio y dextrosa, inyección de ringer lactato y otras soluciones tales como las descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., por ejemplo, 1405-1412 y 1461-1487 (1975) y The National Formulary XIV, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association (1975). Las soluciones pueden contener conservantes, agentes antimicrobianos, soluciones reguladoras y antioxidantes convencionalmente utilizados para soluciones parenterales, excipientes y otros aditivos que sean compatibles con los biopolímeros y que no interfieran con la fabricación, almacenamiento o uso de productos.

Para la administración tópica, el oligómero de alginato se puede incorporar en cremas, ungüentos, geles, parches transdérmicos y similares. Los oligómeros de alginato también se pueden incorporar en apósitos médicos, por ejemplo, apósitos para heridas, por ejemplo, apósitos tejidos (por ejemplo, tela) o apósitos no tejidos (por ejemplo, geles o apósitos con un componente de gel). Se conoce el uso de polímeros de alginato en apósitos y tales apósitos, o incluso cualquier apósito, pueden incorporar adicionalmente los oligómeros de alginato de la invención.

De acuerdo con lo anterior, se proporciona también en este documento un apósito para heridas que comprende un oligómero de alginato (que puede ser cualquier oligómero de alginato como se define en este documento).

Los sistemas tópicos adicionales que se consideran apropiados son sistemas de suministro de fármaco in situ, por ejemplo, geles en los que se forman matrices de gel cristalino sólido, semisólido, amorfo o líquido in situ y que puede comprender el oligómero de alginato. Tales matrices se pueden diseñar convenientemente para controlar la liberación del oligómero de alginato de la matriz, por ejemplo, la liberación puede ser retardada y/o sostenida durante un periodo de tiempo elegido. Tales sistemas pueden formar geles sólo al contacto con tejidos o fluidos biológicos. Por lo general, los geles son bioadhesivos. La administración a cualquier sitio del cuerpo que pueda retener o ser adaptado para retener la composición pre-gel puede ser dirigida por dicha técnica de administración. Tales sistemas se describen en WO 2005/023176.

Para la aplicación a superficies oral, bucal y dental se mencionan específicamente cremas dentales y enjuagues bucales. De este modo, por lo tanto, se proporciona también una composición de higiene bucal, o higiene oral, que comprende un oligómero de alginato (que puede ser cualquier oligómero de alginato como se define en este documento), particularmente un enjuague bucal o pasta de dientes.

Como se ha indicado anteriormente, una composición preferida de uso en la invención es una composición de desbridamiento que se utiliza en un proceso de desbridamiento para eliminar la biopelícula, por ejemplo, de un tejido. Por lo general, dicha composición será líquida, pero se pueden utilizar geles, gel-sólidos o composiciones semisólidas. La composición se puede utilizar para desbridar la biopelícula (por ejemplo, mediante aplicación al tejido a presión) y/o se pueden utilizar para bañar el tejido antes, durante y/o después del desbridamiento por otros

medios tales como procedimientos quirúrgicos, mecánicos o químicos. El experto en la materia puede formular fácilmente composiciones de desbridamiento de acuerdo con la invención.

En el caso de biopelículas en una superficie inanimada, el oligómero de alginato se puede aplicar a la superficie que se va a tratar en cualquier composición o formulación conveniente, o por cualquier medio conveniente. De este modo, el oligómero de alginato puede estar en forma líquida, gel, gel-sólido, semisólida o sólida (por ejemplo, soluciones, suspensiones, homogeneizados, emulsiones, pastas, polvos, aerosoles, vapores). Por lo general, las composiciones para tratar tales biopelículas de superficie inanimada serán una composición no farmacéuticamente aceptable. La elección de la forma de composición será dictada por la estructura de la biopelícula y la composición y ubicación de las colonias. Por ejemplo, si la ubicación de la biopelícula es una línea de fluido, podría ser conveniente aplicar una composición de fluido. También podría ser preferible utilizar una composición que persista en la superficie que se va a tratar, pero que no penetre en el fluido de uso normal, por ejemplo, un gel adhesivo. El experto en la materia puede fácilmente preparar composiciones apropiadas a partir de su conocimiento general común. Por ejemplo, el oligómero de alginato puede añadirse a una formulación de pintura y aplicarse a la superficie que se va a tratar, por ejemplo, un casco de barco u otra parte de la estructura de un barco que esté expuesta al agua o a un edificio o cualquier parte de este, un tanque (por ejemplo, un tanque de almacenamiento o de procesamiento) o incluso cualquier parte de cualquier maquinaria industrial. Tales composiciones pueden comprender convenientemente también un agente antimicrobiano, como se describe anteriormente, por ejemplo, blanqueador de cloro, TCP, etanol, VirkonTM, povidona yodada, compuestos de plata etc. Dado que las composiciones no necesitan ser farmacéuticamente aceptables, se pueden utilizar antimicrobianos más duros, sujetos a consideraciones de daños en la superficie, contaminación ambiental, seguridad del usuario y contaminación de la superficie tratada y la interacción con los otros componentes de la composición.

Las composiciones de uso en la invención se pueden formular con el fin de proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al sujeto/superficie empleando procedimientos bien conocidos en la técnica. También se prefieren composiciones adhesivas. Las formulaciones adhesivas, sostenidas y/o retardadas pueden ser particularmente convenientes.

También se describen en este documento productos susceptibles a la colonización de biopelícula cuyas superficies susceptibles han sido tratadas previamente con un oligómero de alginato como se define en este documento. Ejemplos no limitantes de productos y superficies susceptibles de colonización de biopelículas se han descrito anteriormente. Se puede mencionar en particular el equipo del procesamiento, almacenamiento o dispensación de alimentos o bebidas y los dispositivos médicos. El pretratamiento se puede conseguir por cualquier medio conveniente, por ejemplo, cualquier forma de aplicar el oligómero de alginato a la superficie, recubriendo en particular la superficie, por ejemplo, secado por pulverización, revestimiento polimérico con un polímero que incorpora el oligómero de alginato, y pintando, barnizado o lacado con formulaciones de pintura, barniz o laca que contienen el oligómero de alginato. Dicha composición de "recubrimiento" (por ejemplo, una pintura, barniz o laca) que contiene un oligómero de alginato representa un aspecto adicional de la presente invención. Alternativamente, se puede incorporar el oligómero de alginato en el material con el cual la superficie es fabricada. Este enfoque es apropiado para superficies fabricadas a partir de polímeros tales como plásticos y siliconas, por ejemplo, los dispositivos médicos descritos anteriormente.

En una realización específica, la invención proporciona un dispositivo médico implantable que comprende una superficie inanimada que está revestida con un oligómero de alginato como se define en este documento.

La invención se describirá adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes en los que:

La figura 1 muestra el crecimiento bacteriano en biopelículas de *Pseudomonas*, generadas durante la noche y luego tratadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G (0, 1% 2% o 6%) durante la noche, a 0 h, 6 h y 24 h después de un tratamiento durante la noche con amicacina (4096-0 µg/mL).

La figura 2 muestra el crecimiento bacteriano en biopelículas de *Pseudomonas*, generadas durante la noche y luego tratadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G (0, 1% 2% o 6%) durante la noche, a 0 h, 6 h y 24 h después de un tratamiento durante la noche con oxitetraciclina (4096-0 µg/mL).

La figura 3 muestra el crecimiento bacteriano en las biopelículas de *Pseudomonas* generadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G (0, 1% 2% o 6%) durante la noche, a 0 h, 6 h y 24 h después de un tratamiento durante la noche con oxitetraciclina (4096-0 µg/mL).

La figura 4 muestra el crecimiento bacteriano en biopelículas de *Pseudomonas*, generadas con mucina (2.5 g/L) durante 6 h y luego tratadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G (0 o 6%) durante la noche, a 0, 6 y 24 h después de un tratamiento durante la noche con amicacina, tobramicina, oxitetraciclina o 'amicacina + oxitetraciclina' (4096-0 µg mL⁻¹).

La figura 5 muestra el crecimiento bacteriano en biopelículas de *Pseudomonas* PAO1, generadas durante 6 h sin mucina y luego tratadas con fragmentos de G (0 o 6%) sin mucina, a 0 h, 6 h y 24 h después de un tratamiento durante la noche con amicacina (4096-0 µg/mL) o tobramicina (1024-0 µg/mL).

5 La figura 6 muestra el crecimiento bacteriano en biopelículas de *Pseudomonas* PAO1, generadas con mucina (2.5 g/L) durante 6 h y luego tratadas con mucina (2.5 g/L) y "bloque G #0802" (0 o 6%) durante la noche, a 0, 6 y 24 horas después de un tratamiento durante la noche con amicacina (4096-0 µg mL⁻¹) o tobramicina (1024-0 µg mL⁻¹).

10 La figura 7 muestra el crecimiento bacteriano en las biopelículas de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, generadas con mucina (2.5 g/L) durante 6 h y luego tratadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G (0 o 6%) durante la noche, a 0, 6 y 24 h después de un tratamiento durante la noche con oxitetraciclina (4096-0 µg mL⁻¹).

15 La figura 8 muestra el crecimiento bacteriano en las biopelículas aisladas de la herida de MRSA "1103", generadas con mucina (2.5 g/L) durante 6 h y luego tratadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G (0 o 6%) adicionados durante la noche, a 0 h, 6 h y 24 h después de un tratamiento durante la noche con tobramicina (1024-0 µg/mL).

20 La figura 9 muestra el efecto de los fragmentos de G y mucina en la unión de *Candida albicans* ATCC 90028 y *Candida dubliniensis* CD36^T en biopelículas generadas con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G al 0 o 2% durante la noche.

25 La figura 10 muestra micrografías electrónicas de biopelículas de *Pseudomonas* generadas con mucina (2.5 g/L) durante 6 h y después se trató con mucina (2.5 g/L) y fragmentos de G a 0 o 2% durante 24 horas.

Ejemplos

25 Ejemplo 1- Materiales y métodos estándar

Cepas bacterianas.

30 Se utilizaron dos cepas de recolección de cultivos *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (ATCC 15682, un aislado de herida) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) para los ensayos MBEC junto con un aislado clínico de una úlcera de pierna venosa crónica, *S. aureus* (MRSA) "1103". Se utilizaron dos cepas tipo *Candida*, *C. albicans* ATCC 90028 y *C. dubliniensis* CD36^T para los ensayos de unión.

35 Productos químicos y medios bacterianos.

40 Se cultivaron colonias bacterianas sobre la base de agar de sangre No2, (BA, Lab15, LabM, Bury, UK) suplementado con 5% de sangre de oveja y se utilizaron para inocular caldo de triptona soja (TSB, CM0129, Oxoid, Basingstoke, UK) para el crecimiento durante la noche. Se generaron biopelículas en caldo Mueller-Hinton ajustado a cationes (CAMHB; Lab114, LabM). Todos los antibióticos utilizados fueron de grado farmacéutico (Sigma-Aldrich, Gillingham, UK) e incluían amicacina, oxitetraciclina y tobramicina. La glucoproteína de mucina gástrica de cerdo (purificada por Jeff Pearson, Universidad de Newcastle) y oligómeros de alginato CF-5/20 ("fragmentos de G", 2600Da, 90-95 % de G) y bloque de G # 0802 (6400 Da, 91 % de G) se proporcionaron por Algipharma AS, Sandvika, Noruega.

45 Ensayo de concentración mínima de la erradicación de la biopelícula (MBEC).

50 El método MBEC utilizado se adaptó de Moskowitz SM, et al (2004) J Clin Microbiol 42: 1915-1922. Después de la recuperación de almacenamiento a -80°C, los aislados bacterianos se cultivaron en BA y luego se cultivaron durante la noche en TSB. Después de la dilución de los cultivos bacterianos a 0.5 McFarland en CAMHB con o sin mucina (2.5 g/L), se transfirieron 100 µL a los pozos de una placa de microtitulación de 96 pozos de fondo plano. En el ejemplo 3, los cultivos bacterianos se diluyeron a 0.5 McFarland en CAMHB con mucina (2.5 g/L) y alginato y se transfirieron 100 µL a los pozos de una placa de microtitulación de 96 pozos de fondo plano.

55 A continuación, las placas se envolvieron luego en parafilm para evitar la deshidratación y se incubaron a 37°C para permitir la formación de biopelícula. Los tiempos y las condiciones de incubación variaron como se describe a continuación.

60 Después de la formación de biopelícula, las células planctónicas y el sobrenadante se retiraron y cada pozo se lavó entonces con solución salina estandarizada con fosfato estéril (PBS). Después del lavado, las células se trataron con combinaciones de alginatos y/o antibióticos con o sin mucina (2.5 g/L) en 100 µL de CAMHB. Las placas se envolvieron luego en parafilm y se incubaron a 37°C con inclinación suave. Los tiempos y las condiciones de incubación variaron como se describe a continuación. A continuación, se muestran los antibióticos y los intervalos de concentración utilizados.

65

Los pozos se lavaron con PBS y se adicionaron entonces por duplicado 100 μL de cada concentración de una dilución en serie de antibiótico en CAMHB. Las placas se volvieron a envolver en parafilm y se incubaron a 37°C con ligera inclinación durante la noche.

5 En todos los ensayos de MBEC se evaluó el número de células final de la siguiente manera. Los pozos se lavaron con PBS y las biopelículas se volvieron a suspender en 100 μL de CAMHB mediante pipeteo vigoroso. La densidad óptica a 620 nm (OD_{620}) se midió inmediatamente (0 h) en un lector de microplacas (FLUOstar OPTIMA, BMG LABTECH) y después de la incubación a 37°C a las 6 h y 24 h.

10 El valor de MBEC es la concentración de antibiótico que inhibe todo el crecimiento de las bacterias en la muestra de ensayo. El crecimiento bacteriano se mide mediante un aumento en la absorbancia de la muestra. Por lo tanto, una reducción en el valor de MBEC es un indicativo de que la sensibilidad de la muestra al antibiótico se ha incrementado (esto es, se necesita menos antibiótico para prevenir el crecimiento bacteriano).

15 Antibióticos e intervalos de concentración utilizados.

Antibióticos	Intervalos de concentración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Amicacina	4 - 4096
Amicacina + Oxitetraciclina	4 - 4096
Oxitetraciclina	4 - 4096
Tobramicina	4 - 4096

Ensayo de concentración mínima de la erradicación de la biopelícula (MBEC) sin mucina.

20 Se usó *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (ATCC 15682) para determinar los valores de MBEC sin la adición de mucina. El protocolo de MBEC se siguió como se describe anteriormente, pero sin la adición de mucina al medio de crecimiento. Se probaron dos antibióticos, amicacina y tobramicina.

Ensayo de unión de levadura.

25 El ensayo de unión utilizado se adaptó de Djordjevic et al., (2002) Appl Environ Microbiol 68:2950-2958. *C. albicans* ATCC 90028 y *C. dubliniensis* CD36¹ fueron las cepas de *Candida* utilizadas para los ensayos de unión. Las cepas de *Candida* se cultivaron en agar de dextrosa Sabourauds (Lab33, LabM) y se cultivaron los cultivos de caldo durante la noche en medio líquido Sabouraud (Lab9, LabM). Después de la adición de 5 μL del cultivo durante la noche, se adicionaron a los pozos 95 μL de CAMHB con mucina adicionada (2.5 g/L) y fragmentos de G (a concentraciones de 0, 2%, 6% o 10%). Las placas se envuelven en parafilm y se incuban a 37°C, durante la noche para permitir la formación de la biopelícula.

30

35 Las células planctónicas y el sobrenadante se retiraron de los pozos antes de lavar las biopelículas (3x) resultantes con dH_2O estéril. Las placas se secaron entonces a 56°C, durante 45 min. Cada pozo se tiñó entonces con 150 μL de violeta de cristal al 1% (v/v) (en agua) durante 45 min. Las placas se lavaron de nuevo (3x) con dH_2O , antes de adicionar 200 μL de etanol al 95%. Después de 5 min, se transfirieron 100 μL de cada pozo a una nueva placa de microtitulación. El OD se midió después en un lector de placas a 540 nm.

40 Crecimiento de biopelículas para formación de imágenes.

Después de recuperar desde almacenamiento a -80°C, los aislados bacterianos se cultivaron en BA y después se cultivaron durante la noche en TSB. Después de la dilución de los cultivos bacterianos a 0.5 McFarland en CAMHB con mucina (2.5 g/L), se transfirieron 100 μL a los pozos de una placa de microtitulación de 96 pozos de fondo plano. Las placas fueron envueltas en parafilm para evitar la deshidratación y se incubaron a 37°C, durante 6 horas para permitir la formación de biopelícula. Después de la formación de la biopelícula, las células planctónicas y el sobrenadante se retiraron y cada pozo se lavó entonces con solución salina estandarizada con fosfato estéril (PBS). Después del lavado, las células se trataron con fragmentos de G y mucina (2.5 g/L) en 100 μL de CAMHB. Las placas se envuelven entonces en parafilm y se incuban a 37°C, durante 24 horas con inclinación suave.

45

50

Microscopía electrónica de barrido (SEM) de biopelículas de *Pseudomonas*.

Se adicionó glutaraldehído (2%) a las biopelículas tratadas con fragmentos de G y se fijaron a temperatura ambiente, durante 24 horas. Las muestras se deshidrataron en una serie graduada de concentraciones de etanol, se secaron en un secador de puntos críticos (Balzers CPD 030, Alemania), se montaron sobre portamuestras de aluminio, se revistieron con oro en un sistema de recubrimiento con pulverización (EMscope modelo AE 1231, UK) y luego se examinó en un microscopio electrónico de barrido (FEI-Philips XL-20, Países Bajos).

55

Microscopía confocal de biopelículas no perturbadas usando BODIPY® 630/650-X SE

60

Las biopelículas tratadas con fragmentos de G se lavaron con agua destilada estéril y se tiñeron con la tinción BODIPY® 630/650-X SE (BODIPY® 630/650-X SE, Invitrogen Ltd.) que tiñe selectivamente los componentes de matriz (EPS) en biopelículas de *Pseudomonas*.

- 5 Se adicionó BODIPY® 630/650-X SE (100 µL (10 µg/mL)) a cada muestra de biopelícula. La preparación se incubó en la oscuridad durante 1 hora y después se analizó mediante CLSM.

Ejemplo 2 - Medición de los valores de MBEC para biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*, durante la noche tratadas previamente con fragmentos de G

- 10 Se siguió el ensayo de MBEC descrito anteriormente. Las biopelículas se generaron en placas durante la noche sin mucina. Después de un lavado con PBS, las biopelículas se incubaron con fragmentos a 0, 1, 2 o 6% de G y mucina durante la noche. Después de lavar con PBS, las células se incubaron durante la noche con antibióticos (amicacina u oxitetraciclina) y sin mucina. Los resultados se muestran gráficamente en las figuras 1 y 2 y se tabulan en las
15 Tablas 2 y 3 a continuación. Como se puede observar, el pretratamiento durante la noche de la biopelícula con fragmentos de G provoca reducciones en los valores de MBEC de 6 horas y 24 horas para la amicacina u oxitetraciclina. Los valores de MBEC de 6 horas para amicacina y oxitetraciclina se redujeron a la mitad en fragmentos al 1% de G y se dividieron en cuartos por fragmentos al 2 y 6% de G. Los valores de MBEC de 24 horas para la oxitetraciclina se redujeron a la mitad por todas las concentraciones de fragmentos de G. Los valores de
20 MBEC de 24 horas para la amicacina se redujeron, aunque no fue posible cuantificar esta reducción. Esto indica que un pretratamiento durante la noche con fragmentos de G aumenta la sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* en biopelículas a estos antibióticos.

- 25 Tabla 2 – Resumen de valores de MBEC a 6 horas después de la exposición durante la noche a antibiótico. Las biopelículas de *Pseudomonas* generadas durante la noche. La mucina (2.5 g/L) y se adicionaron fragmentos de G a 0, 1%, 2% o 6% a las biopelículas establecidas. Los valores se expresan como µg/mL de antibiótico.

[Fragmento G]	Amicacina	Oxitetraciclina
0	2048	512
1%	1024	256
2%	512	128
6%	512	128

- 30 Tabla 3 – Resumen de valores de MBEC a 24 horas después de la exposición durante la noche a antibiótico. Las biopelículas de *Pseudomonas* generadas durante la noche. La mucina (2.5 g/L) y se adicionaron fragmentos de G a 0, 1%, 2% o 6% a las biopelículas establecidas. Los valores se expresan como µg/mL de antibiótico.

[Fragmento G]	Amicacina	Oxitetraciclina
0	>4096	2048
1%	4096	1024
2%	4096	1024
6%	4096	1024

- 35 Clave

Disminución en valor de MBEC a partir de G al 0%
--

Ejemplo 3 -Medición de valores de MBEC para biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* generadas en presencia de fragmentos de G

- 40 Se siguió el ensayo MBEC descrito anteriormente. Las biopelículas se generaron en placas durante la noche en presencia de mucina y fragmentos a 0, 1, 2 o 6% de G. Después del lavado, las biopelículas se expusieron a oxitetraciclina (sin mucina) durante la noche. Los resultados se muestran gráficamente en la figura 3 y se tabulan en las Tablas 4 y 5 a continuación. Como se puede observar, en todas las concentraciones de fragmentos de G
45 ensayadas, la generación de biopelículas en presencia de fragmentos de G redujo a la mitad los valores de MBEC de 24 horas. Los valores de MBEC de 6 h se redujeron a la mitad cuando se utilizaron fragmentos al 2% y 6% de G. Los fragmentos al 1% de G no causaron una reducción. Estos datos muestran que *Pseudomonas aeruginosa* en biopelículas generadas en presencia de fragmentos de G son más susceptibles a oxitetraciclina que *Pseudomonas aeruginosa* en biopelículas generadas en ausencia de fragmentos de G.

- 50 Tabla 4 – Resumen de valores de MBEC a 6 horas después de la exposición durante la noche a antibiótico. Las biopelículas de *Pseudomonas* generadas con mucina (2.5 g/L) y se adicionaron fragmentos de G a 0, 1%, 2% o 6% a las biopelículas establecidas. Los valores se expresan como µg/mL de antibiótico.

[Fragmento G]	Oxitetraciclina
0	512
1%	512
2%	256
6%	256

Tabla 5 – Resumen de valores de MBEC a 24 horas después de la exposición durante la noche a antibiótico. Las biopelículas de *Pseudomonas* generadas con mucina (2.5 g/L) y se adicionaron fragmentos de G a 0, 1%, 2% o 6% a las biopelículas establecidas. Los valores se expresan como µg/mL de antibiótico.

5

[Fragmento G]	Oxitetraciclina
0	4096
1%	2048
2%	2048
6%	2048

Clave

	Disminución en valor de MBEC a partir de G al 0%
	Sin cambio en valor de MBEC a partir de G al 0%

10

Ejemplo 4 - Medición de los valores de MBEC para biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*, generadas durante 6 horas y tratadas previamente con fragmentos de G

15

El ensayo de MBEC descrito anteriormente se siguió con mucina presente completamente. Se generaron biopelículas en presencia de mucina durante una incubación de 6 horas, se lavaron e incubaron con fragmentos de G y mucina durante la noche. Después de lavar con PBS, los cultivos se expusieron a antibióticos (amicacina, tobramicina, oxitetraciclina o una combinación de amicacina y oxitetraciclina) sin mucina. Los resultados se muestran gráficamente en la figura 4 y en forma tabulada en las Tablas 6 y 7. Como se puede observar, el pretratamiento de biopelículas de 6 horas con fragmentos al 6% de G causó que los valores de MBEC de 6 horas para todos los antibióticos probados fueran al menos la cuarta parte, esto es, la sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* en estas biopelículas a estos antibióticos fue al menos cuadruplicada. De hecho, los fragmentos al 6% de G causaron que el valor de MBEC de 6 horas para la oxitetraciclina disminuyera a 1/8 del valor de control. Los valores de MBEC de 24 horas para amicacina y tobramicina se redujeron a la mitad. El valor de MBEC de 24 horas para oxitetraciclina y la mezcla de amicacina/oxitetraciclina no mostró ningún cambio en los valores de MBEC.

25

Tabla 6 – Resumen de valores de MBEC a 6 horas después de la exposición durante la noche a antibiótico. Las biopelículas de *Pseudomonas* generadas en medio con mucina adicionada durante 6 h, expuestas a fragmentos de G a 0, o 6% durante la noche y luego se exponen a antibióticos. Los valores se expresan como µg mL⁻¹ de antibiótico.

30

[Fragmento G]	Amicacina	Oxitetraciclina	Tobramicina	Amicacina + Oxitetraciclina
0	64	512	32	128
6%	16	64	8	64

Tabla 7 – Resumen de valores de MBEC a 24 horas después de la exposición durante la noche a antibiótico. Las biopelículas de *Pseudomonas* generadas en medio con mucina adicionada durante 6 h, expuestas a fragmentos de G a 0, o 6% durante la noche y luego se exponen a antibióticos. Los valores se expresan como µg/mL de antibiótico.

35

[Fragmento G]	Amicacina	Oxitetraciclina	Tobramicina	Amicacina + Oxitetraciclina
0	>4096	1024	512	1024
6%	4096	1024	256	1024

Clave

	Disminución en valor de MBEC a partir de G al 0%
	Sin cambio en valor de MBEC a partir de G al 0%

40

Ejemplo 5 - Medición de los valores de MBEC para biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* generadas durante 6 horas sin mucina y tratadas previamente con fragmentos de G sin mucina

Se repitió el protocolo del ejemplo 4 usando tobramicina y amicacina, pero sin la adición de mucina. Los resultados se muestran en la figura 5. Como se puede observar, en ausencia de mucina, los fragmentos de G eran todavía

capaces de reducir a la mitad los valores de MBEC en todos los valores de MBEC de 24 horas para amicacina. Esto es un indicativo de que la mucina no está jugando un papel significativo en los efectos observados en los ejemplos anteriores.

- 5 Ejemplo 6 - Medición de los valores de MBEC para biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* generadas durante 6 horas y tratadas previamente con un oligómero de alginato diferente

10 El ensayo de MBEC descrito en el Ejemplo 4 se repitió con un oligómero de alginato alternativo, bloque de G (# 0802) (6400 MW, comparado con fragmentos CF-5/20G, 2600 MW) y usando tobramicina y amicacina. El valor de MBEC a 24 horas para amicacina es una cuarta parte por pretratamiento de la biopelícula con bloque al 6% de G (# 0802). El mismo tratamiento dio como resultado el valor de MBEC de 24 horas para tobramicina, reducido a la mitad. Estos datos muestran que otro oligómero de alginato puede provocar un aumento en la sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* PA01 en biopelículas a tobramicina y amicacina.

- 15 Ejemplo 7 - Medición de los valores de MBEC para biopelículas de 6 horas que contienen otras bacterias, tratadas previamente con fragmentos de G

20 El efecto de los fragmentos de G sobre biopelículas de *Staphylococcus aureus* se investigó usando el ensayo de MBEC descrito en el Ejemplo 4 y oxitetraciclina. Como se puede observar en la figura 7, el pretratamiento de biopelículas que contenían *S. aureus* ATCC 6538 con fragmentos al 6% de G redujo a la mitad los valores de MBEC a las 6 y 24 horas para la oxitetraciclina. Como se puede observar en la figura 8, el pretratamiento de biopelículas que contenían el aislado de herida de MRSA "1103" con fragmentos al 6% de G redujo a la mitad el valor de MBEC a las 24 h para la tobramicina. Estos datos muestran que otras bacterias comúnmente encontradas en las biopelículas, se pueden hacer más susceptibles a la oxitetraciclina y tobramicina tratando previamente las biopelículas con fragmentos de G.

Ejemplo 8 - El efecto de los fragmentos de G sobre la unión de la levadura en la biopelícula

30 El efecto de los fragmentos de G sobre la unión de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* en biopelícula se investigó usando el ensayo de unión descrito anteriormente. Se observó una disminución en la unión de ambas especies de *Candida* cuando se formaron biopelículas que contenían estas levaduras en presencia de fragmentos al 2% de G y mucina en comparación con el control de la mucina solamente. (Figura 9). Estos datos muestran que los fragmentos de G pueden afectar la unión de células de levadura en biopelículas en desarrollo.

- 35 Ejemplo 9 - Análisis microscópico de la estructura de la biopelícula de *Pseudomonas* y efectos de los fragmentos de G

40 La estructura general de biopelículas de *Pseudomonas* se siguió utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM) La figura 10 muestra el efecto de fragmentos al 2% de G sobre la estructura de la biopelícula. El polisacárido extracelular (EPS) que recubre las superficies celulares parece estar deteriorado con fragmentos al 2% de G.

Ejemplo 10 - Análisis microscópico de la estructura de la biopelícula de *Pseudomonas* y efectos de los fragmentos de G

45 El efecto de los fragmentos de G sobre la estructura de la matriz de biopelícula de *Pseudomonas* se investigó usando microscopía confocal de biopelículas no deterioradas marcadas con el colorante fluorescente BODIPY® 630/650-X SE. Este colorante tiñe selectivamente los componentes de la matriz (EPS) en las biopelículas de *Pseudomonas*. La fragmentación sutil de la matriz de biopelícula fue aparente con una concentración creciente de fragmentos de G cuando se comparó con el control de "sólo mucina".

- 50 Ejemplo 11 - Composición tópica que comprende un oligómero de alginato

Se prepara un ejemplo de una composición tópica (una loción corporal hidratante para el cuidado de la piel) que comprende un oligómero de alginato con los siguientes ingredientes.

55 Fase de aceite:

Aceite mineral	3%
Ciclometicona	4%
Miristato de isopropilo	3%
Ácido esteárico	1.8%
Alcohol cetílico	1.0%
Estearato de glicerilo	1.5%

Fase acuosa:

Carbomer 984	0.10%
Glicerina	3%
Trietanolamina	0.90%
Oligómero de alginato	0.1%
Agua	81.60%

Ejemplo 12 -Composición de desbridamiento que comprende un oligómero de alginato

- 5 Se prepara un ejemplo de una composición de desbridamiento líquida que comprende un oligómero de alginato con los siguientes ingredientes.

Aceite de ricino	77.8%
Bálsamo de Perú grado refinado	10%
Colagenasa	0.2%
ZnCl	0.5%
Agua	5%
Polioxietileno (10) éter olefílico	4%
Sílica coloidal	2%
Oligómero de alginato	0.5%

10

REIVINDICACIONES

1. Un método para combatir la biopelícula que no está en o sobre un cuerpo humano o animal no humano, comprendiendo dicho método poner en contacto dicha biopelícula con un oligómero de alginato, en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% residuos de G.
2. El método de la reivindicación 1, en donde dicha biopelícula está sobre una superficie inanimada.
3. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la biopelícula se encuentra en una superficie seleccionada de superficies de maquinaria o equipo de procesamiento, preparación, almacenamiento o dispensación de alimentos o bebidas, superficies de aparatos de aire acondicionado, superficies de maquinaria industrial, superficies de tanques de almacenamiento, superficies de equipo médico o quirúrgico, superficies de equipos acuáticos/marinos o las superficies de edificios y otras estructuras, y preferiblemente en donde la superficie se selecciona de equipos o superficies de procesamiento, almacenamiento, dispensación o preparación de alimentos, tanques, transportadores, pisos, drenajes, refrigeradores, congeladores, superficies de equipos, paredes, válvulas, correas, tuberías, conductos de aire acondicionado, aparatos de refrigeración, líneas de dispensación de alimentos o bebidas, intercambiadores de calor, cascos de barcos, líneas de agua dentales, conductos de perforación de petróleo, lentes de contacto, cajas de almacenamiento de lentes de contacto, catéteres, dispositivos protésicos o dispositivos médicos implantables.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el oligómero de alginato
- (i) tiene un peso molecular medio inferior a 35,000 Daltons, preferiblemente inferior a 30,000, 25,000 o 20,000 Daltons;
- (ii) tiene un grado medio de polimerización de 2 a 100, preferiblemente 2 a 75, 2 a 50, 2 a 35, o 2 a 30;
- (iii) es un 3- a 35-mer, 3- a 28-mer, 4- a 25-mer, 6- a 22-mer, 8- a 20-mer, o 10- a 15-mer;
- (iv) tiene al menos 80, 85, 90 o 95% residuos de G; y/o
- (v) tiene una estructura primaria en la que al menos el 90% de los residuos G están unidos en 1-4 con otro residuo G.
5. Un oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula presente en un sujeto, en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% residuos de G.
6. Uso de un oligómero de alginato en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula presente en un sujeto en donde el oligómero de alginato tiene al menos 70% residuos de G.
7. El oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula de la reivindicación 5 o el uso de la reivindicación 6, en donde el oligómero de alginato
- (i) tiene un peso molecular medio inferior a 35,000 Daltons, preferiblemente inferior a 30,000, 25,000 o 20,000 Daltons;
- (ii) tiene un grado medio de polimerización de 2 a 100, preferiblemente 2 a 75, 2 a 50, 2 a 35, o 2 a 30;
- (iii) es un 3- a 35-mer, 3- a 28-mer, 4- a 25-mer, 6- a 22-mer, 8- a 20-mer, o 10- a 15-mer;
- (iv) tiene al menos 80, 85, 90 o 95% residuos de G; y/o
- (v) tiene una estructura primaria en la que al menos el 90% de los residuos G están unidos en 1-4 con otro residuo G.
8. El oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula o uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde la biopelícula está en o sobre una superficie corporal interna o externa, y preferiblemente en donde la superficie corporal interna o externa está seleccionada de una superficie en la cavidad oral, el tracto reproductivo, el tracto urinario, el tracto respiratorio, el tracto gastrointestinal, el peritoneo, el oído medio, la próstata, la íntima vascular, la conjuntiva, el tejido corneal, el tejido pulmonar, las válvulas cardíacas, la piel, el cuero cabelludo, las uñas o el interior de las heridas.
9. El oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula o uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde el sujeto es un sujeto seleccionado de un sujeto con una infección preestablecida, un sujeto inmunocomprometido, un sujeto sometido a cuidado intensivo o crítico, un sujeto que sufre un trauma, un sujeto con quemadura, un sujeto con una herida aguda y/o crónica, un sujeto neonatal, un sujeto de edad avanzada,

- 5 un sujeto con cáncer, un sujeto que sufre de una condición autoinmune, un sujeto con secreción epitelial o endotelial reducida o suprimida y/o liberación de secreción o un sujeto equipado con un dispositivo médico, y preferiblemente en donde el sujeto se selecciona de un sujeto con una afección seleccionada de HIV, sepsis, choque séptico, AIDS, un cáncer del sistema inmunológico, la artritis reumatoide, la diabetes mellitus tipo I, la enfermedad de Crohn, COPD, la bronquitis, la fibrosis quística, el enfisema, el cáncer de pulmón, el asma, la neumonía y la sinusitis, un sujeto que se prepara, somete o recupera de quimioterapia y/o radioterapia, un sujeto de trasplante de órganos, un sujeto residente en una institución de salud o fumador.
- 10 10. El oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección o uso de biopelícula como se reivindica con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en donde dicho oligómero de alginato se utiliza para tratar la infección de biopelícula en heridas y/o quemaduras o en un dispositivo médico en la vivienda.
- 15 11. El oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección o uso de biopelícula como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, en donde el oligómero de alginato se utiliza en el tratamiento de placa dental, gingivitis, periodontitis, endocarditis nativa de la válvula, otitis media aguda, prostatitis bacteriana crónica, neumonía, asma o infección relacionada con dispositivos asociados con dispositivos médicos implantables y/o protésicos o reemplazos de tejidos.
- 20 12. El método, oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula o uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicho oligómero de alginato se utiliza en combinación con un agente antimicrobiano y preferiblemente en donde el agente antimicrobiano es un antibiótico o un agente antifúngico o un agente antiséptico, desinfectante, esterilizante o de limpieza.
- 25 13. El método, oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula o uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el oligómero de alginato se utiliza en combinación con al menos un otro agente de descomposición de biopelícula y/o agente de reducción de la viscosidad de la mucosa, preferiblemente seleccionado de proteasas, nucleasas, lipasas, enzimas capaces de degradar polisacáridos, gelsolina, agentes reductores de tiol, una acetilcisteína, cloruro de sodio, o un ácido poliamino aniónico, y un precursor de óxido nítrico o estimulador de síntesis, y particularmente en donde dicho oligómero de alginato se utiliza en combinación con una alginato liasa y/o una enzima DNasa.
- 30 14. El método, oligómero de alginato para uso en el tratamiento de una infección de biopelícula, o uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde dicho oligómero de alginato se utiliza en combinación con agente terapéuticamente activo adicional, preferiblemente un agente inmunoestimulante, un factor de crecimiento o un agente antiinflamatorio.
- 35 15. Un producto que contiene un oligómero de alginato como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 o 7 y un segundo agente activo como una preparación combinada para uso separado, simultáneo o secuencial en el tratamiento de la infección de biopelícula presente en un sujeto, preferiblemente en donde el agente activo es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14.
- 40 16. El producto de la reivindicación 15, en forma de una solución salina hipertónica, una solución inhalable, un polvo inhalable, una pulverización nasal, una composición de desbridamiento, una composición tópica, una pasta de dientes o un enjuague bucal.
- 45 17. Un dispositivo médico implantable que comprende una superficie inanimada que está revestida con un oligómero de alginato como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 o 7.
- 50 18. Una solución estéril acuosa de desbridamiento de heridas o una solución estéril a base de aceite de desbridamiento de heridas que contiene un oligómero de alginato como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 o 7 y que contiene además al menos una enzima proteolítica y/o al menos una fase sólida abrasiva, en donde dicha composición es una solución estéril acuosa o una solución estéril a base de aceite.

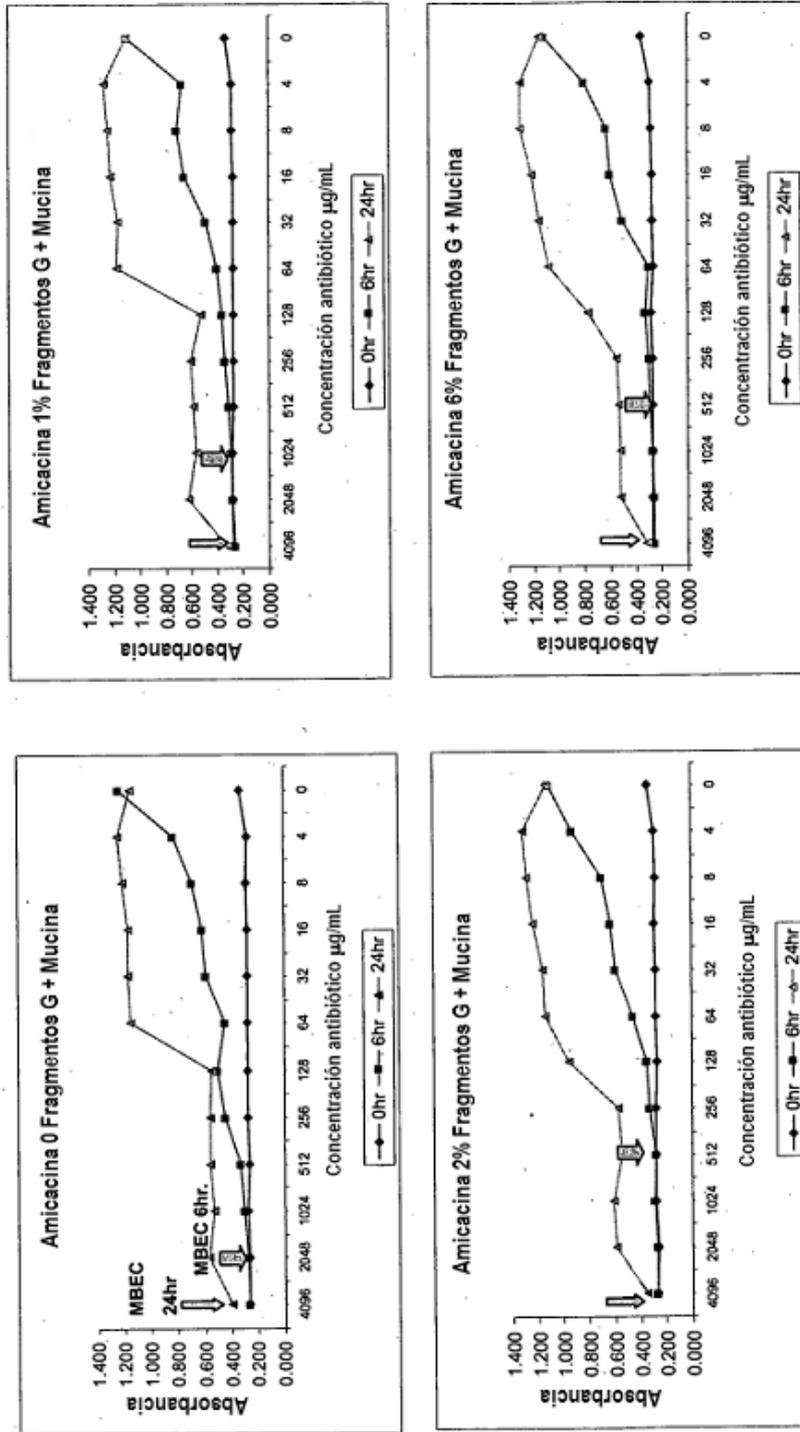


Figura 1

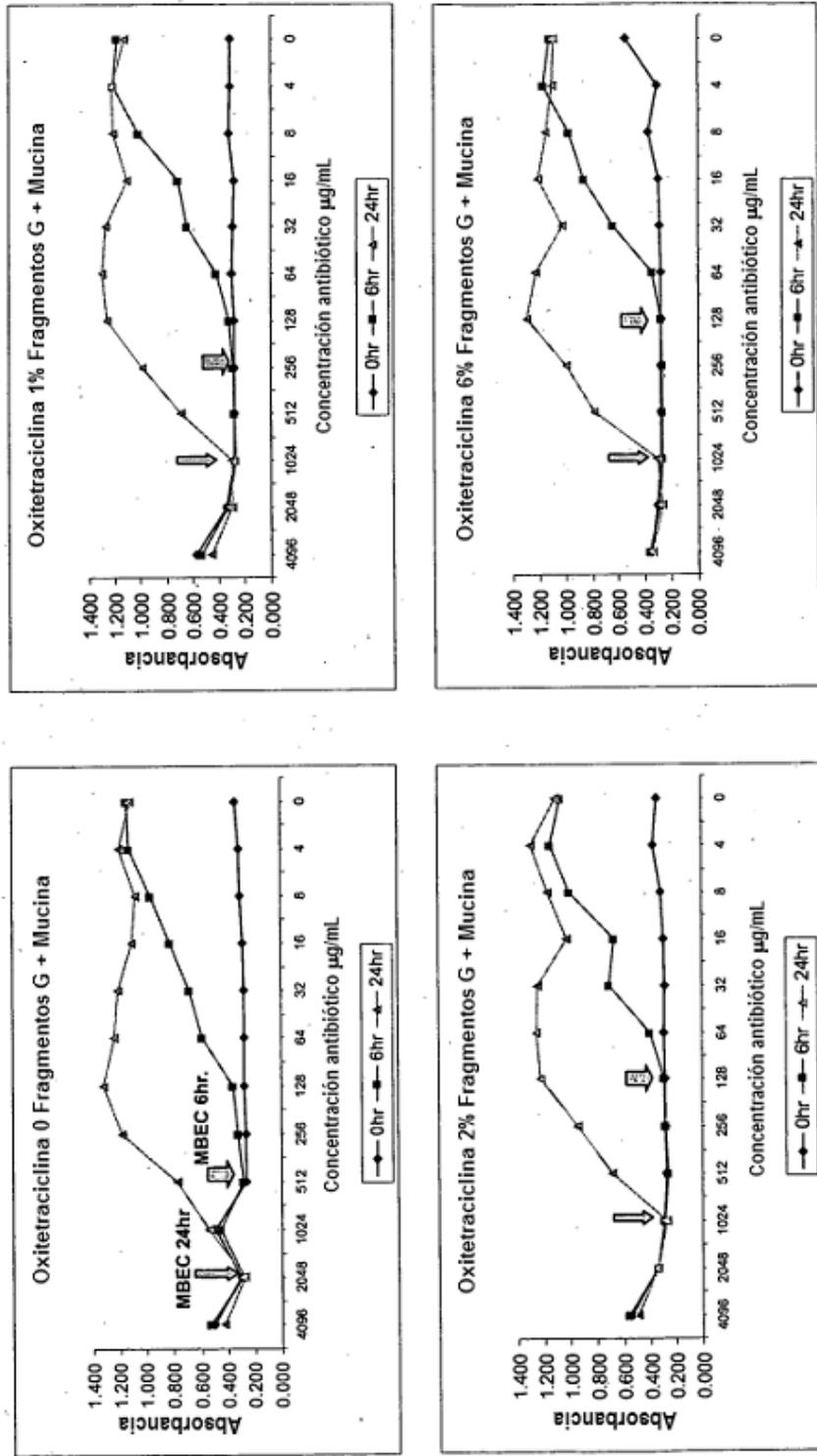


Figura 2

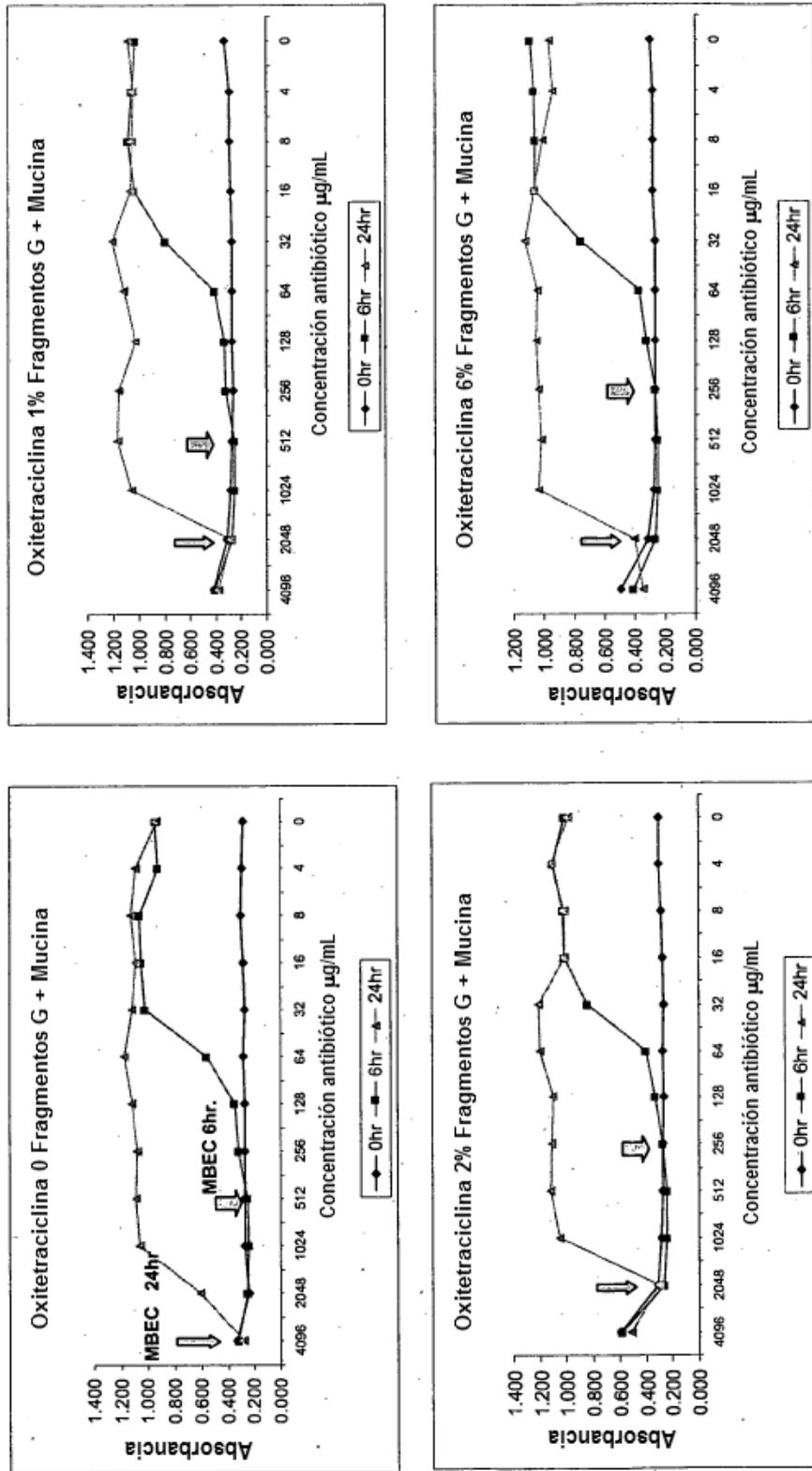


Figura 3

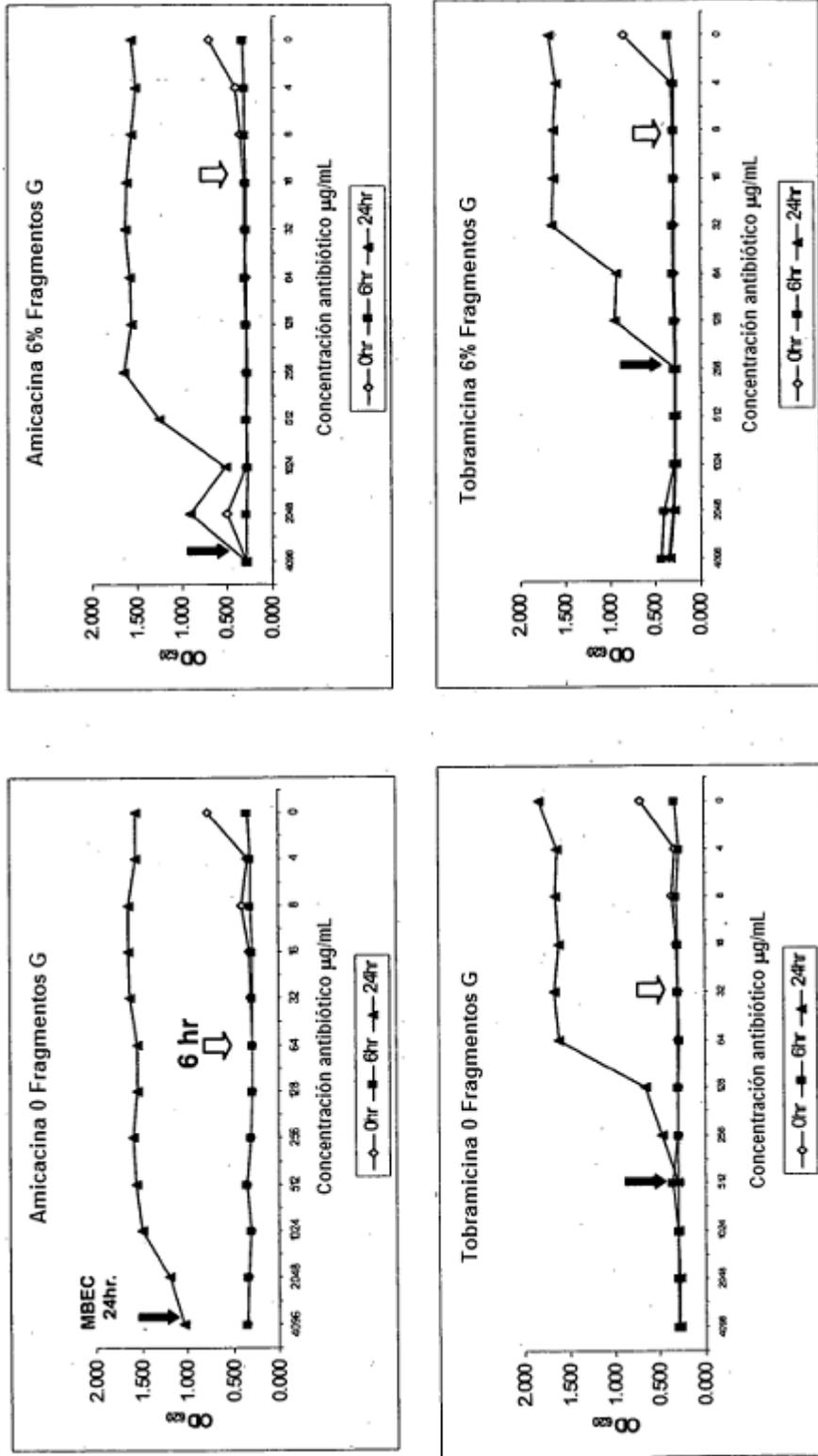


Figura 4

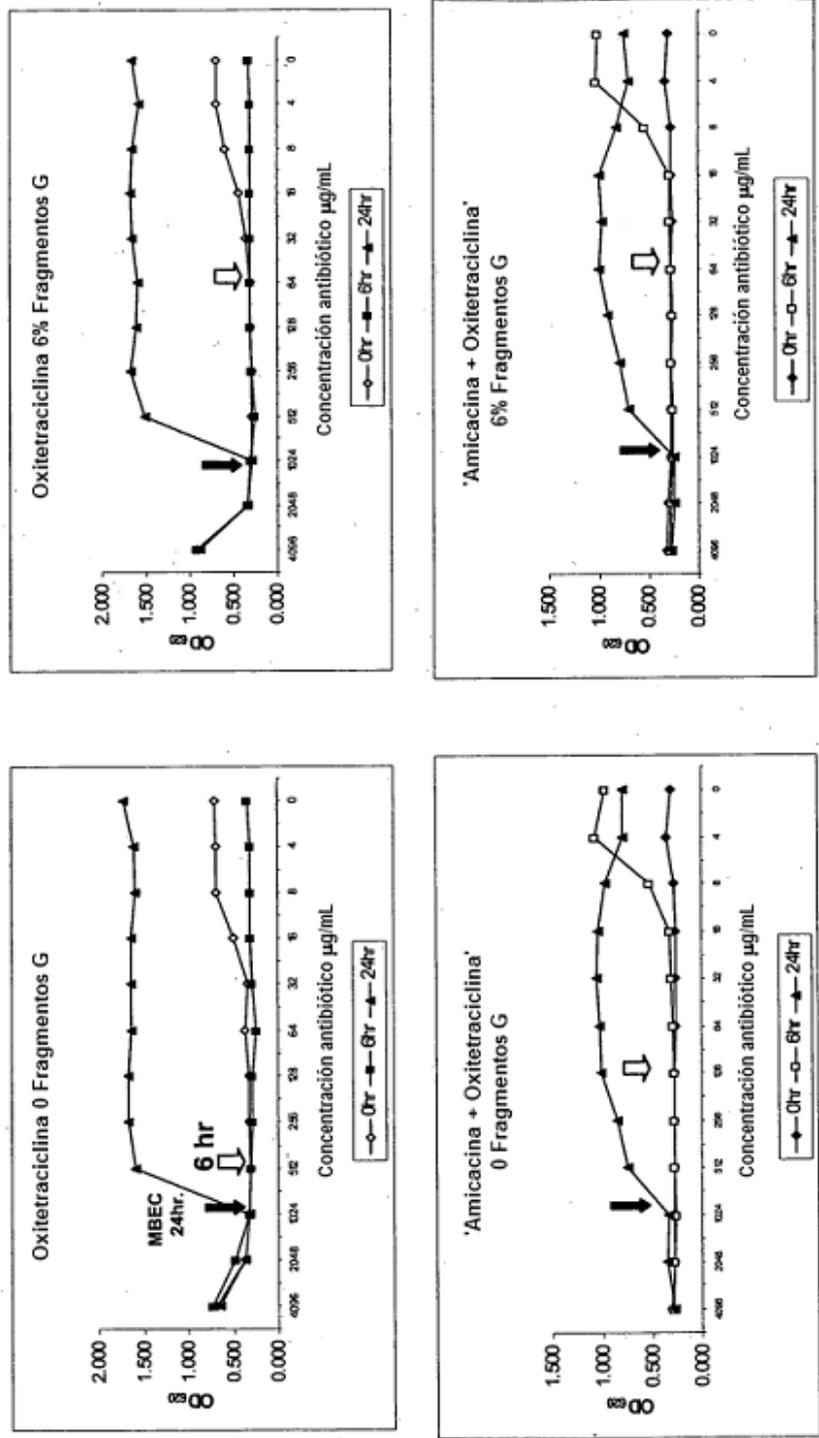


Figura 4 (cont.)

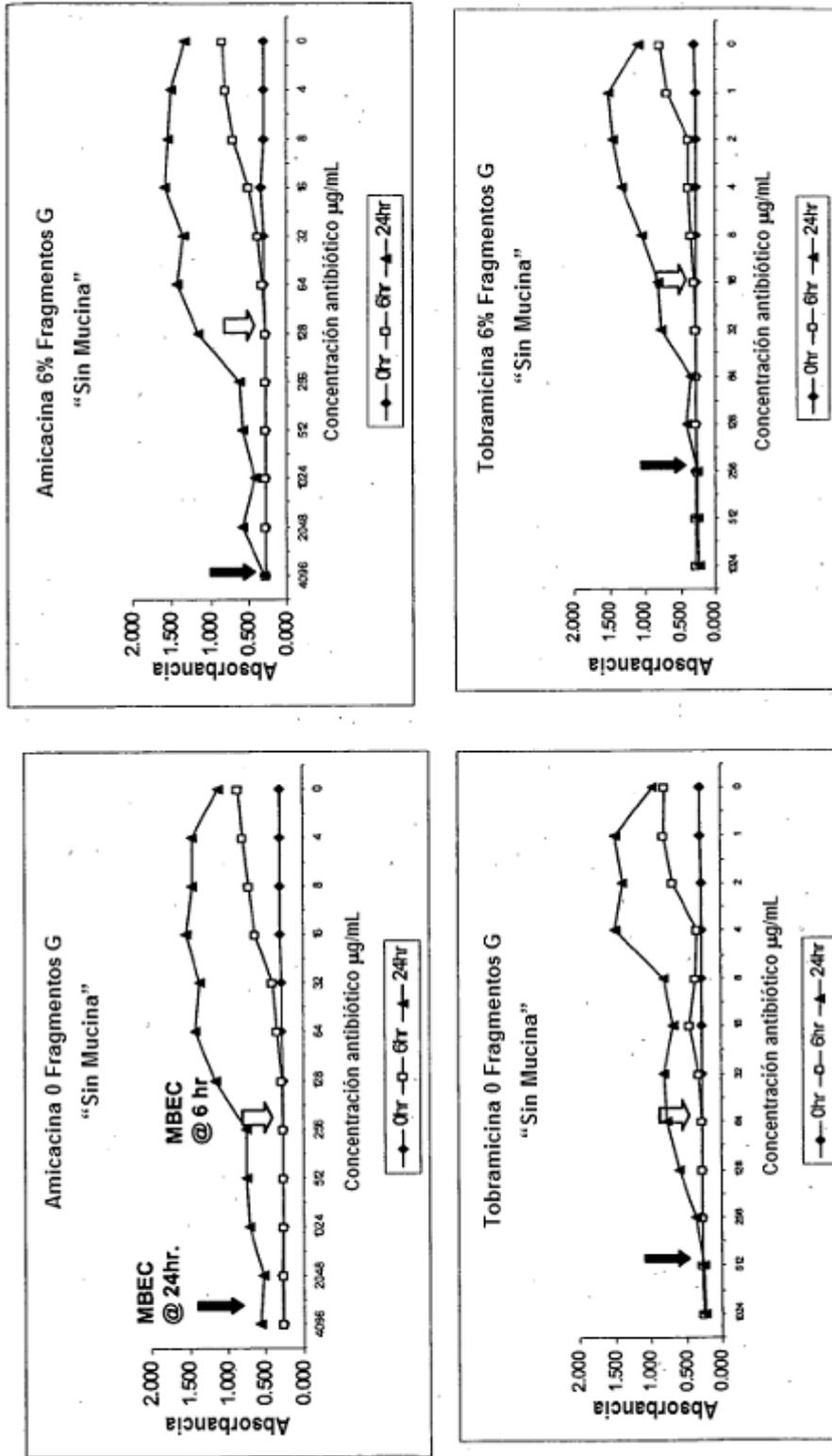


Figura 5

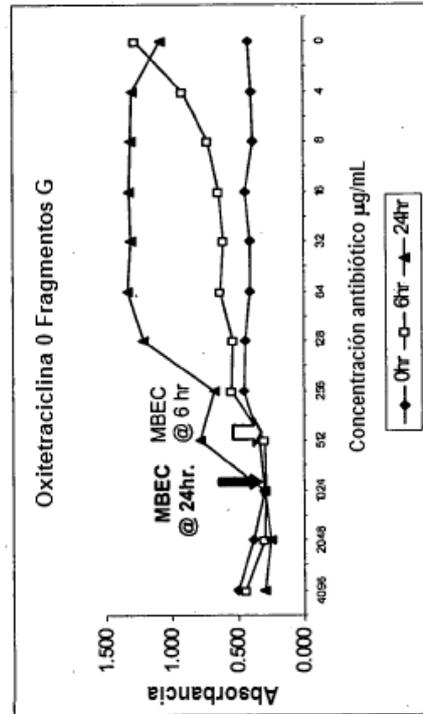
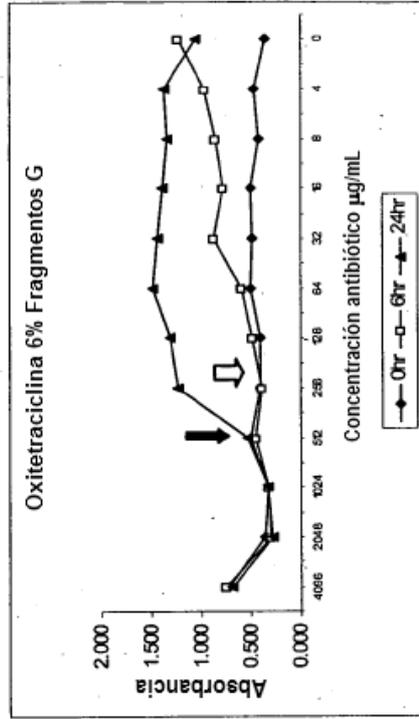


Figura 7

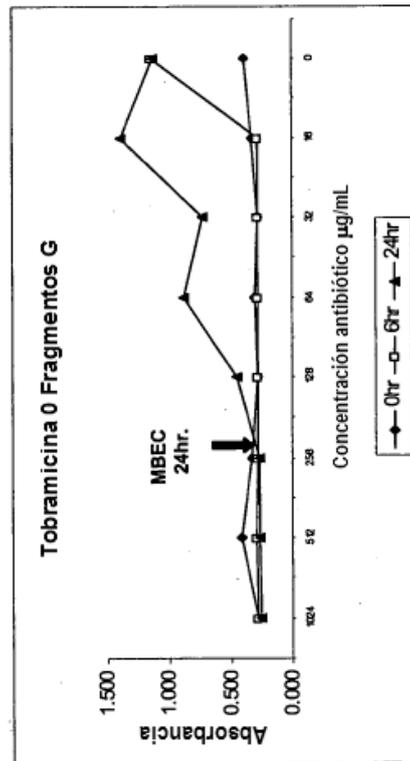
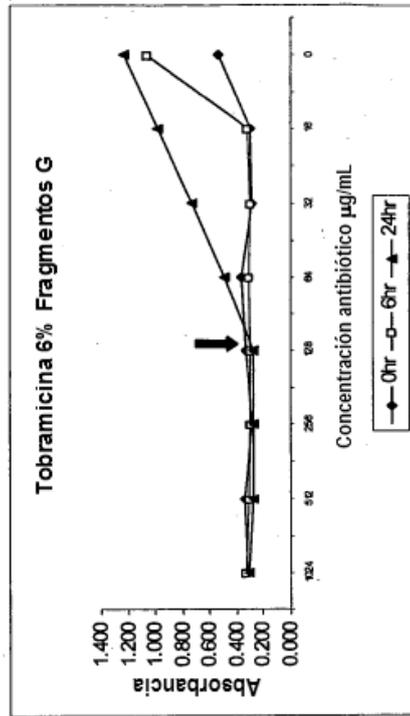


Figura 8

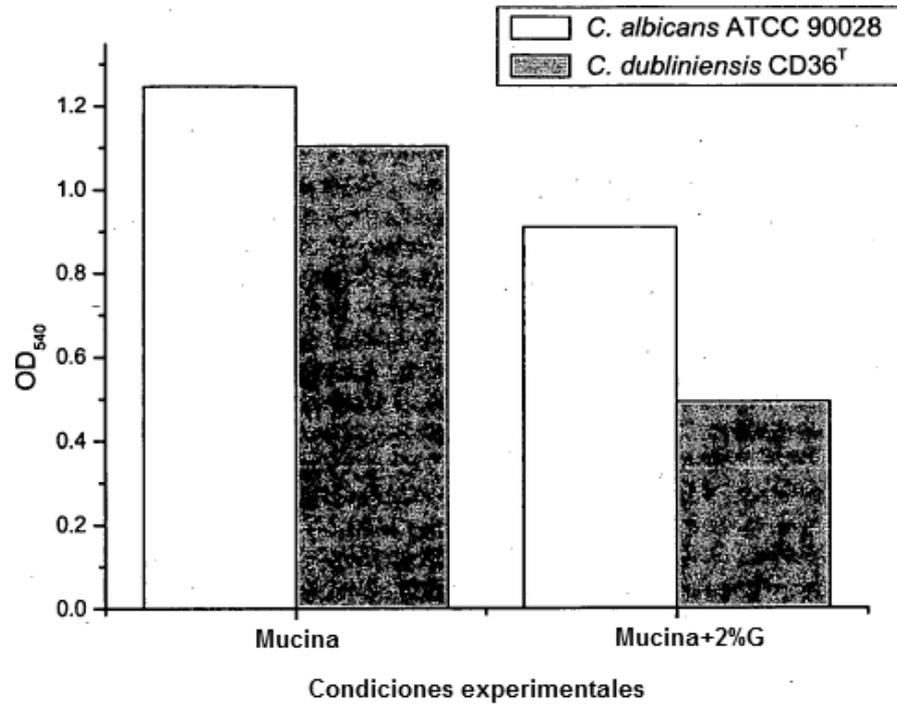
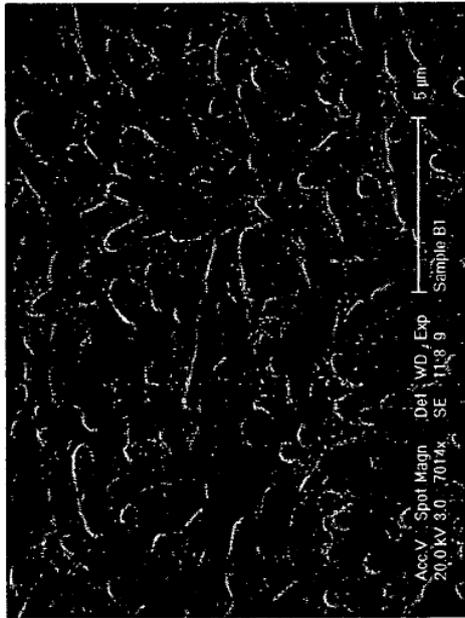


Figura 9



MUCINA + 2%G



SOLAMENTE MUCINA

Figura 10