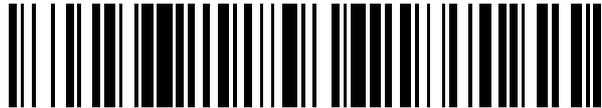


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 482 666**

21 Número de solicitud: 201231552

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2015.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

09.10.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

04.08.2014

Fecha de la concesión:

05.05.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

12.05.2015

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (100.0%)
Centro de Innovación e Transferencia de
Tecnoloxía - Edf. Emprendia Campus Sur
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES**

72 Inventor/es:

**OTERO CASAL, Ana María y
ROMERO BERNARDEZ, Manuel**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

54 Título: **Uso de la cepa CECT 7426 para provocar quorum quenching de la señal autoinductor-2 (AI-2)**

57 Resumen:

Uso de la cepa CECT 7426 para provocar quorum quenching de la señal Autoinductor-2 (AI-2).

La invención se refiere al uso de una cepa bacteriana de la especie *Tenacibaculum discolor*, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, para provocar quorum quenching en bacterias a través de la inhibición de señales tipo AI-2, y más concretamente para el tratamiento y/o prevención de enfermedades infecciosas y para inhibir la formación de biofilms, producidos por dichas bacterias.

ES 2 482 666 B1

USO DE LA CEPA CECT 7426 PARA PROVOCAR QUORUM QUENCHING DE LA SEÑAL AUTOINDUCTOR-2 (AI-2)

DESCRIPCIÓN

5

La presente invención se refiere al uso de una cepa bacteriana de la especie *Tenacibaculum discolor* para el control de enfermedades infecciosas y para inhibir la formación de biofilms producidos por bacterias, a través de la inhibición de las señales de *quorum sensing* tipo Autoinductor-2 (AI-2). Por tanto, la invención se podría encuadrar en el campo de la biología molecular.

10

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Numerosas especies bacterianas usan un mecanismo de regulación genética coordinada dependiente de la densidad celular. Este mecanismo, conocido como “*quorum sensing*” (QS), consiste en la producción y liberación de moléculas señal al medio, donde se acumulan controlando la expresión de múltiples genes. Mediante la comunicación por QS las poblaciones bacterianas pueden coordinarse para ejecutar importantes funciones biológicas, muchas de ellas implicadas en la virulencia de importantes patógenos, como: movilidad, “*swarming*”, agregación, luminiscencia, biosíntesis de antibióticos, expresión de factores de virulencia, simbiosis, formación y diferenciación de biofilms, o transferencia de plásmidos por conjugación, entre otros.

En bacterias Gram negativas, las señales de QS más estudiadas y conocidas son las N-acil-homoserin lactonas (AHLs), mientras que las bacterias Gram positivas usan varias moléculas de naturaleza peptídica. Mientras que los receptores de AHLs suelen ser citoplasmáticos, los receptores de los oligopéptidos presentes en Gram positivos suelen estar en la membrana, por lo que la transducción de señales ocurre mediante una cascada de fosforilación. Existe un tercer tipo de señal de QS, el autoinductor denominado Autoinductor-2 (AI-2). Éste consiste en realidad en una familia de moléculas de estructura similar al diéster furanosil borato descrito por primera vez para *Vibrio harveyi*, que se encuentra tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas y que son sintetizadas por la proteína LuxS. Por ello, se ha propuesto que AI-2 podría actuar como el lenguaje químico interespecífico más universal (Federle y Bassler, 2003. *Journal of Clinical Investigation*. 112(9):1291-1299). Para *V. harveyi*, AI-2 es un (2S,4S)-2-metil-2,3,3,4-tetrahidroxitetrahidrofurano-borato, mientras que el de *S. typhimurium* es un (2R,4S)-2-metil-2,3,3,4-tetrahidroxitetrahidrofurano. La proteína sintetizadora de AI-2 es *LuxS* y la búsqueda en bases de datos muestra que este gen está muy extendido, estando presente en aproximadamente 60 especies (Williams *et al.*, 2007. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 362: 1119-1134). En algunas de estas bacterias, los sistemas de QS mediados por AI-2 controlan importantes funciones, incluyendo factores de virulencia y formación de biopelículas (Zhang y Dong, 2004. *Molecular Microbiology* 53: 1563–1571). Así, por ejemplo, se ha mostrado que la delección del gen *luxS* en *S. mutans* afecta a la formación del biofilm (Merritt *et al.*, 2003. *Infection and Immunity* 71(4): 1972-1979).

Dentro de las bacterias en las que se ha descrito la presencia de señales AI-2, existen distintos patógenos, tanto Gram-positivos como Gram-negativos, en los que además ya se ha demostrado un efecto fisiológico de AI-2 y/o de la mutación de su sintetasa (*LuxS*), tales como: *Borrelia burgdorferi*, *Campilobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Neisseria meningitidis*, *Salmonella entérica*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Proteus mirabilis*, *Listeria monocytogenes*, *Eikenella corrodens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Photobacterium luminescens*, *Bacteroides sps*, *Aeromonas hydrophila* y *Haemophilus influenzae*. Otras bacterias no patógenas pero con importancia biotecnológica en las que también se ha demostrado dicho efecto fisiológico de AI-2 y/o de la mutación de su sintetasa *LuxS* son *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus reuteri* (Vendeville, A. *et al.* 2005. *Nature Reviews Microbiology* 3:383-396; Hardie, K.R. and Heurlier, K. 2008. *Nature Reviews Microbiology* 6:635-643). En concreto, en *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus suis*, se ha demostrado que las señales AI-2 juegan un papel esencial tanto en la formación de biofilms como en la virulencia de estas bacterias (Xu L, *et al.* 2006. *Infection and Immunity* 74(1): 488-96). A pesar de que algunos estudios no pudieron demostrar el papel de AI-2 en la expresión de factores de virulencia de *S. aureus*, estudios más recientes demuestran que esta molécula interviene en la formación de polisacáridos capsulares, que constituyen la base para la formación de biopelículas (Zhao, L. *et al.*, 2010. *Infection and immunity* 78 (8): 3506-3515). Además, en *Streptococcus mutans*, *S. oralis* o *S. gordonii*, que poseen homólogos de *luxS*, una mutación de este gen produce biofilms de estructura alterada, demostrándose que las señales AI-2 regulan el proceso de producción de biopelículas en estos patógenos (Yoshida, A; *et al.* 2005. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (5): 2372-2380). Adicionalmente, se ha descrito el

gen luxS en otras bacterias orales tales como *Actinobacillus antinomycetemcomitans*, con lo que potencialmente deberían producir la señal AI-2.

5 Como las poblaciones de especies bacterianas coordinadas por QS obtienen importantes ventajas competitivas en sus múltiples interacciones con otros procariontes y eucariotas, sus competidores han desarrollado mecanismos para interferir con su comunicación por sistemas QS. A estos mecanismos se les conoce como “*quorum quenching*” (QQ).

10 El documento de patente ES2342807B2 describe el uso de bacterias del género *Tenacibaculum*, y en concreto de la cepa CECT 7426, para provocar QQ a través de la degradación de AHLs, las señales de QS típicas de bacterias Gram negativas, y por tanto sugiere su uso para el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas y la inhibición de la formación de biofilms en bacterias Gram negativas que utilicen AHLs como mecanismo de coordinación de su virulencia o como mecanismo para la formación de biofilms.

15 Se han descrito también estrategias de QQ dirigidas a bacterias Gram positivas cuyo objetivo es el bloqueo del regulador *agr* (*accessory gene regulation*) o del gen *luxS*, que está asociado con la síntesis de AI-2 (Voung *et al.*, 2003. *The Journal of Infectious Diseases* 188: 706-718; Merritt *et al.*, 2003. *Infection and Immunity* 71(4): 1972-1979).

20 Una de las actividades bacterianas de mayor importancia clínica y ecológica en la que intervienen los procesos de “*quorum sensing*” es la formación de biofilms, que requiere la producción, por parte de los microorganismos, de estas moléculas señal difusibles.

25 Los biofilms son películas biológicas que se desarrollan y persisten en las superficies, y que suelen ser estables y difíciles de eliminar debido a la naturaleza protectora de la matriz de polisacárido en la que están embebidos los microorganismos. Pueden definirse como una población bacteriana encerrada dentro de una matriz de polisacárido que se adhiere a las superficies. Se encuentran generalmente en las superficies de los equipamientos industriales que procesan o transportan líquidos, o en las superficies adyacentes a tales equipamientos. A menudo se encuentran en la superficie de los implantes médicos o en los dispositivos insertados en el organismo. También se pueden formar en áreas del cuerpo que están expuestas al aire; en particular en heridas y en la pleura. Uno de los biofilms biológicos que presenta mayor complejidad y de mayor relevancia clínica es la placa dental.

35 Los medicamentos convencionales, como por ejemplo, los antibióticos, son poco eficaces en infecciones que cursan a través de la formación de biofilms, debido a las barreras de difusión o al estado metabólico de los microorganismos en el biofilm.

40 Por tanto, mecanismos de interferencia del QS, es decir el QQ, solos o en combinación con antibióticos, constituyen una estrategia interesante en la inhibición de la formación de biofilms, así como en el tratamiento de enfermedades infecciosas por patógenos multiresistentes (March & Bentley, 2004. *Current Opinion in Biotechnology* 15:495–502). Por ejemplo, se ha propuesto que puede ser útil en el tratamiento de enfermedades, tanto en los animales como en las plantas, provocadas por los géneros *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Borrelia*, *Salmonella*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Chromobacterium*, *Pectobacterium*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, o por otras enterobacterias.

45 Además, el interés de las estrategias de QQ para el tratamiento de enfermedades infecciosas es que, al no afectar directamente a la supervivencia del patógeno sino a la expresión de los factores de virulencia, no ejercen presión selectiva evitando la aparición de resistencias. Por esta razón, este tipo de estrategia ha sido denominada “anti-infectiva” o “anti-patogénica” en contraste con los “antibióticos” o “antibacterianos” cuyo objetivo es la muerte celular.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

55 La presente invención se refiere al uso de una cepa de la especie *Tenacibaculum discolor*, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o cualquiera de sus combinaciones, para provocar *quorum quenching* a través de la inhibición de las señales de *quorum sensing* tipo AI-2. Por tanto, el empleo de esta cepa es útil para controlar las infecciones bacterianas provocadas por bacterias que utilicen este mecanismo de coordinación de su virulencia, sin ejercer presión selectiva sobre las poblaciones de las bacterias patógenas y evitando así la aparición de resistencias. También permite la inhibición de otros procesos de colonización bacteriana en los que están implicadas las señales de *quorum sensing* o QS tipo AI-2 como la formación de biofilms.

La presente invención describe por primera vez la capacidad de una cepa bacteriana de *Tenacibaculum discolor* para interferir con las señales de *quorum sensing* de tipo AI-2, y por tanto para inhibir procesos de virulencia o de formación de biofilms por parte de importantes patógenos.

- 5 Por tanto, un aspecto de la invención se refiere al uso de una cepa bacteriana depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) con número de depósito CECT 7426, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o cualquiera de sus combinaciones, de ahora en adelante "cepa de la invención" o "cepa 20J", para provocar *quorum quenching* en bacterias productoras de la señal AI-2.
- 10 La cepa depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) con número de depósito CECT 7426 es la cepa descrita en la solicitud de patente ES2342807B2.

- 15 Cualquier bacteria regula su expresión génica en respuesta a diferentes señales medioambientales, una propiedad esencial para competir con otros organismos. En el caso particular de bacterias patógenas, la regulación génica es crucial para permitir la supervivencia de la bacteria en el particular ambiente que le ofrece su hospedador. Los genes de virulencia bacterianos están sujetos a complejos mecanismos de regulación para asegurar la expresión del gen apropiado en el momento apropiado. Los AI-2 son las señales de QS más extendidas en bacterias de todo tipo, y son empleadas por multitud de bacterias patógenas humanas, de plantas y marinas, tanto Gram-positivas como Gram-negativas, para el control de
- 20 la producción de factores de virulencia.

- La proteína sintetizadora de AI-2 es *LuxS*. Una búsqueda en la base de datos GenBank demuestra que existen numerosas bacterias que poseen homólogos del gen *luxS* de *Vibrio harveyi*, la especie de referencia en el estudio de este tipo de señales, y que por tanto son bacterias productoras de AI-2. Las
- 25 bacterias que poseen homólogos del gen *luxS* de *V. harveyi* se muestran en la Tabla 1.

PROTEOBACTERIA	
ESPECIE	Porcentaje de homología (%) con el gen <i>luxS</i> de <i>V. harveyi</i>
<i>Vibrio harveyi</i> ATCC BAA-1116	100
<i>Aliivibrio logei</i>	98
<i>Aliivibrio salmonicida</i> LF11238	86
<i>Alishewanella agri</i> BL06	80
<i>Citrobacter koseri</i> ATCC BAA-895	78
<i>Citrobacter rodentium</i> ICC168	78
<i>Citrobacter</i> sp. 30_2	78
<i>Cronobacter sakazakii</i> ES1	77
<i>Cronobacter turicensis</i> z3032	78
<i>Dickeya dadantii</i> 3937	78
<i>Enterobacter cancerogenus</i> ATCC 35316	77
<i>Enterobacter cloacae</i> EcWSU1	77
<i>Enterobacter hormaechei</i> ATCC 49162	77
<i>Enterobacter mori</i> LMG 25706	77
<i>Enterobacter radicincitans</i> DSM 16656	77
<i>Enterobacter</i> sp. Ag1	78
<i>Escherichia albertii</i> TW07627	79
<i>Escherichia coli</i> CFT073	78
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 str. EDL933	77
<i>Escherichia hermannii</i> NBRC 105704	77
<i>Ferrimonas balearica</i> DSM 9799	82

ES 2 482 666 B1

<i>Haemophilus parainfluenzae</i> ATCC 33392	78
<i>Haemophilus pittmaniae</i> HK 85	78
<i>Moritella</i> sp. PE36	78
<i>Neisseria cinerea</i> ATCC 14685	81
<i>Neisseria flavescens</i> NRL30031/H210	80
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> FA 1090	81
<i>Neisseria lactamica</i> ATCC 23970	81
<i>Neisseria macacae</i> ATCC 33926	80
<i>Neisseria meningitidis</i> NM3081	81
<i>Neisseria mucosa</i> ATCC 25996	80
<i>Neisseria polysaccharea</i> ATCC 43768	81
<i>Neisseria sicca</i> ATCC 29256	80
<i>Neisseria subflava</i> NJ9703	80
<i>Oceanimonas</i> sp. GK1	79
<i>Pantoea</i> sp. aB	76
<i>Photobacterium leiognathi</i> subsp. <i>mandapamensis</i> svers.1.1	81
<i>Photobacterium phosphoreum</i>	78
<i>Photobacterium profundum</i> 3TCK	85
<i>Proteus mirabilis</i> HI4320	78
<i>Proteus penneri</i> ATCC 35198	78
<i>Providencia stuartii</i> MRSN 2154	78
<i>Rheinheimera nanhaiensis</i> E407-8	81
<i>Salmonella bongori</i> NCTC 12419	77
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> serovar 62:z4,z23 str. RSK2980	76
<i>Serratia odorifera</i> DSM 4582	77
<i>Serratia proteamaculans</i> 568	76
<i>Shewanella amazonensis</i> SB2B	78
<i>Shewanella baltica</i> OS625	78
<i>Shewanella benthica</i> KT99	78
<i>Shewanella halifaxensis</i> HAW-EB4]	76
<i>Shewanella loihica</i> PV-4	78
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	78
<i>Shewanella pealeana</i> ATCC 700345	77
<i>Shewanella piezotolerans</i> WP3	77
<i>Shewanella sediminis</i> HAW-EB3	77
<i>Shewanella violacea</i> DSS12	78
<i>Shewanella woodyi</i> ATCC 51908	78
<i>Shigella flexneri</i> 1235-66	78
<i>Vibrio aestuarianus</i>	85
<i>Vibrio alginolyticus</i> 12G01	95
<i>Vibrio anguillarum</i> 775	85
<i>Vibrio angustum</i> S14	82

<i>Vibrio brasiliensis</i> LMG 20546	91
<i>Vibrio campbellii</i> DS40M4	99
<i>Vibrio cholerae</i> O1 biovar El Tor str. N16961	86
<i>Vibrio cincinnatiensis</i>	86
<i>Vibrio diazotrophicus</i>	87
<i>Vibrio fischeri</i> ES114	87
<i>Vibrio fluvialis</i>	85
<i>Vibrio furnissii</i>	85
<i>Vibrio ichthyoenteri</i> ATCC 700023	87
<i>Vibrio mediterranei</i>	89
<i>Vibrio metschnikovii</i>	84
<i>Vibrio mimicus</i> VM603	85
<i>Vibrio nereis</i>	89
<i>Vibrio nigripulchritudo</i> ATCC 27043	85
<i>Vibrio ordalii</i> ATCC 33509	85
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> RIMD 2210633	94
<i>Vibrio pomeroyi</i>	90
<i>Vibrio scophthalmi</i> LMG 19158	88
<i>Vibrio shilonii</i> AK1	88
<i>Vibrio sinaloensis</i> DSM 21326	89
<i>Vibrio splendidus</i> LGP32	90
<i>Vibrio tubiashii</i>	90
<i>Vibrio vulnificus</i> CMCP6	90
<i>Vibrio xuii</i>	92
<i>Yersinia rohdei</i> ATCC 43380	79
SPIROCHAETALES, FIRMICUTES, ACTINOBACTERIDAE	
ESPECIE	Porcentaje de homología (%) con el gen luxS de <i>V. harveyi</i>
<i>Vibrio harveyi</i> ATCC BAA-1116	100
<i>Acetohalobium arabaticum</i> DSM 5501	83
<i>Actinomyces georgiae</i> F0490	94
<i>Actinomyces odontolyticus</i> ATCC 17982	93
<i>Actinomyces</i> sp. oral taxon 178 str. F0338	94
<i>Aerococcus viridans</i> ATCC 11563	93
<i>Alkaliphilus oremlandii</i> OhILAs	84
<i>Arthrobacter arilaitensis</i> Re117	91
<i>Bacillus cellulosilyticus</i> DSM 2522	83
<i>Bacillus coagulans</i> 36D1	83
<i>Bacillus macauensis</i> ZFHKF-1	83
<i>Bacillus selenitireducens</i> MLS10	83
<i>Bacillus smithii</i> 7_3_47FAA	83
<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>longum</i> BBM6	41

ES 2 482 666 B1

<i>Bifidobacterium breve</i> CECT 7263	41
<i>Brachybacterium faecium</i> DSM 4810	84
<i>Clostridium botulinum</i> A3 str. Loch Maree	88
<i>Clostridium cellulovorans</i> 743B	88
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	88
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 15579	88
<i>Enterococcus faecium</i> E980	89
<i>Gemella haemolysans</i> ATCC 10379	84
<i>Gemella morbillorum</i> M424	84
<i>Gemella sanguinis</i> M325	84
<i>Kurthia</i> sp. JC8E	91
<i>Lactobacillus amylovorus</i> GRL 1112	88
<i>Lactobacillus buchneri</i> NRRL B-30929	88
<i>Lactobacillus crispatus</i> JV-V01	88
<i>Lactobacillus farciminis</i> KCTC 3681	88
<i>Lactobacillus gasseri</i> MV-22	88
<i>Lactobacillus helveticus</i> H10	88
<i>Lactobacillus johnsonii</i> NCC 533	88
<i>Lactobacillus kefirifaciens</i> ZW3	88
<i>Lactobacillus mucosae</i> LM1	88
<i>Lactobacillus ultunensis</i> DSM 16047	88
<i>Lactobacillus versmoldensis</i> KCTC 3814	88
<i>Lentibacillus</i> sp. Grbi	83
<i>Listeria monocytogenes</i> HCC23	83
<i>Oenococcus oeni</i> PSU-1	88
<i>Ornithinibacillus scapharcae</i> TW25	83
<i>Paenibacillus alvei</i> DSM 29	88
<i>Pediococcus pentosaceus</i> ATCC 25745	88
<i>Planococcus antarcticus</i> DSM 14505	84
<i>Planococcus donghaensis</i> MPA1U2	83
<i>Propionibacterium acnes</i> KPA171202	83
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	46
<i>Solibacillus silvestris</i> StLB046	83
<i>Sporosarcina newyorkensis</i> 2681	83
<i>Staphylococcus arlettae</i> CVD059	83
<i>Staphylococcus aureus</i> RF122	84
<i>Staphylococcus capitis</i> SK14	84
<i>Staphylococcus caprae</i> C87	84
<i>Staphylococcus carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i> TM300	84
<i>Staphylococcus epidermidis</i> VCU121	84
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> JCSC1435	84
<i>Staphylococcus hominis</i> VCU122	84

ES 2 482 666 B1

<i>Staphylococcus lugdunensis</i> HKU09-01	83
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i> VCU012	84
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ED99	84
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i> ATCC 15305	84
<i>Staphylococcus simiae</i> CCM 7213	88
<i>Staphylococcus warneri</i> L37603	84
<i>Streptococcus anginosus</i> SK52 = DSM 20563	40
<i>Streptococcus criceti</i> HS-6	40
<i>Streptococcus cristatus</i> ATCC 51100	38
<i>Streptococcus gordonii</i> str. <i>Challis</i> substr. CH1	38
<i>Streptococcus mutans</i> NN2025	38
<i>Streptococcus parasanguinis</i> F0405	37
<i>Streptococcus rattii</i> FA-1	37
<i>Streptococcus sanguinis</i> SK405	39
<i>Thermoanaerobacterium saccharolyticum</i> JW/SL-YS485	84
<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> DSM 571	84
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> CG8486	75
<i>Campylobacter coli</i> 317/04	75
<i>Corynebacterium casei</i> UCMA 3821	37
<i>Corynebacterium pseudogenitalium</i> ATCC 33035	39
<i>Corynebacterium ammoniagenes</i> DSM 20306	38
<i>Corynebacterium tuberculostearicum</i> SK141	39
<i>Corynebacterium aurimucosum</i> ATCC 700975	38
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i> ATCC 51867	38
<i>Corynebacterium accolens</i> ATCC 49725	38
<i>Corynebacterium kroppenstedtii</i> DSM 44385	39
<i>Corynebacterium striatum</i> ATCC 6940	35
<i>Corynebacterium glutamicum</i> ATCC 13032	29
<i>Gordonia polyisoprenivorans</i> NBRC 16320	41
<i>Mycobacterium</i> sp. MOTT36Y	33
<i>Mycobacterium intracellulare</i> ATCC 13950	33
<i>Helicobacter cinaedi</i> CCUG 18818	68
<i>Helicobacter hepaticus</i> ATCC 51449	69
<i>Helicobacter bilis</i> ATCC 43879	66
<i>Helicobacter winghamensis</i> ATCC BAA-430	70
<i>Helicobacter canadensis</i> MIT 98-5491	66
<i>Helicobacter pullorum</i> MIT 98-5489	65
<i>Helicobacter pylori</i> B38	41
<i>Borrelia valaisiana</i> VS116	33
<i>Borrelia burgdorferi</i> B31	33
<i>Borrelia bissettii</i> DN127	33
<i>Borrelia afzelii</i> PKo	33

<i>Borrelia garinii</i> BgVir	33
<i>Actinobacillus minor</i> NM305	74
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> serovar 1 str. 4074]	72
<i>Actinobacillus ureae</i> ATCC 25976	72
<i>Actinobacillus succinogenes</i> 130Z	72
<i>Prevotella ruminicola</i>	100
<i>Prevotella brevis</i>	96
<i>Prevotella tanneriae</i> ATCC 51259	34
<i>Prevotella bryantii</i> B14	32
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> PR426713P-I	34
<i>Prevotella buccae</i> ATCC 33574	32
<i>Porphyromonas uenonis</i> 60-3	34
<i>Prevotella ruminicola</i> 23	33
<i>Prevotella bergensis</i> DSM 17361	31
<i>Prevotella multisaccharivorax</i> DSM 17128	32
<i>Prevotella melaninogenica</i> ATCC 25845	33
<i>Prevotella marshii</i> DSM 16973	33
<i>Prevotella oralis</i> ATCC 33269	31
<i>Prevotella timonensis</i> CRIS 5C-B1	32
<i>Prevotella dentalis</i> DSM 3688	33
<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277	29

Tabla 1: Bacterias que poseen homólogos del gen *luxS* (gen responsable de la producción de la señal AI-2) de *V. harveyi* (GenBank).

Además, existen bacterias no mostradas en la Tabla 1 pero para las que ya se ha demostrado un efecto fisiológico de AI-2 y/o de la mutación de su sintetasa (LuxS), tales como *Serratia marcescens*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus intermedius*, *Eikenella corrodens*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Photobacterium luminescens*, *Bacteroides* sp., *Aeromonas hydrophila*, *Haemophilus influenzae*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus reuteri* (Vendeville, A. et al. 2005. *Nature Reviews Microbiology* 3:383-396; Hardie, K.R. and Heurlier, K. 2008. *Nature Reviews Microbiology* 6:635-643).

Por tanto, en la presente invención se entiende por "bacteria productora de AI-2" cualquier especie seleccionada de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces* sp., *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulolyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachybacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Kurthia* sp., *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasserii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefirifaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus* sp., *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium* sp., *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus*

anginosus, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*,
 5 *Acetohalobium arabaticum*, *Actinobacillus minor*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus ureae*, *Actinobacillus succinogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Alishewanella agri*, *Aliivibrio logei*, *Aliivibrio salmonicida*, *Bacteroides* sp., *Borrelia afzelii*, *Borrelia bissettii*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Borrelia valaisiana*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter rodentium*, *Citrobacter* sp., *Cronobacter sakazakii*, *Cronobacter turicensis*, *Dickeya dadantii*, *Eikenella corrodens*
 10 *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter mori*, *Enterobacter radicincitans*, *Enterobacter* sp., *Escherichia albertii*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Ferrimonas balearica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus pittmaniae*, *Helicobacter bilis*, *Helicobacter canadensis*, *Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter hepaticus*, *Helicobacter pullorum*, *Helicobacter pylori*, *Helicobacter winghamensis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moritella* sp., *Neisseria cinerea*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria macacae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, *Neisseria subflava*, *Oceanimonas* sp., *Pantoea* sp., *Photobacterium leiognathi*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium profundum*, *Photobacterium luminescens*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas uenonis*, *Prevotella bergensis*, *Prevotella brevis*, *Prevotella bryantii*, *Prevotella buccae*,
 20 *Prevotella dentalis*, *Prevotella marshii*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella multisaccharivorax*, *Prevotella ruminicola*, *Prevotella tanneriae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella timonensis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, *Providencia stuartii*, *Rheinheimera nanhaiensis*, *Salmonella bongori*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera*, *Serratia proteamaculans*, *Shewanella amazonensis*, *Shewanella baltica*, *Shewanella benthica*, *Shewanella halifaxensis*, *Shewanella loihica*, *Shewanella oneidensis*,
 25 *Shewanella pealeana*, *Shewanella piezotolerans*, *Shewanella sediminis*, *Shewanella violacea*, *Shewanella woodyi*, *Shigella flexneri*, *Vibrio aestuarianus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio angustum*, *Vibrio brasiliensis*, *Vibrio campbellii*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio diazotrophicus*, *Vibrio fischeri*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio ichthyenteri*, *Vibrio mediterranei*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio nereis*, *Vibrio nigripulchritudo*, *Vibrio ordalii*, *Vibrio parahaemolyticus*,
 30 *Vibrio pomeroyi*, *Vibrio scopthalmi*, *Vibrio shilonii*, *Vibrio sinaloensis*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio tubiashii*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio xuii*, *Yersinia rohdei*.

Se entiende por "bacteria productora de AI-2 Gram negativa" cualquier especie seleccionada de la lista que consiste en: *Acetohalobium arabaticum*, *Actinobacillus minor*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*,
 35 *Actinobacillus ureae*, *Actinobacillus succinogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Alishewanella agri*, *Aliivibrio logei*, *Aliivibrio salmonicida*, *Bacteroides* sp., *Borrelia afzelii*, *Borrelia bissettii*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Borrelia valaisiana*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter rodentium*, *Citrobacter* sp., *Cronobacter sakazakii*, *Cronobacter turicensis*, *Dickeya dadantii*, *Eikenella corrodens*, *Enterobacter cancerogenus*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter mori*, *Enterobacter radicincitans*, *Enterobacter* sp., *Escherichia albertii*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Ferrimonas balearica*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus pittmaniae*, *Helicobacter bilis*, *Helicobacter canadensis*, *Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter hepaticus*, *Helicobacter pullorum*, *Helicobacter pylori*, *Helicobacter winghamensis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moritella* sp., *Neisseria cinerea*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria macacae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, *Neisseria subflava*, *Oceanimonas* sp., *Pantoea* sp., *Photobacterium leiognathi*, *Photobacterium phosphoreum*, *Photobacterium profundum*, *Photobacterium luminescens*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas uenonis*, *Prevotella bergensis*, *Prevotella brevis*, *Prevotella bryantii*, *Prevotella buccae*, *Prevotella dentalis*, *Prevotella marshii*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella multisaccharivorax*,
 45 *Prevotella ruminicola*, *Prevotella tanneriae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella timonensis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus penneri*, *Providencia stuartii*, *Rheinheimera nanhaiensis*, *Salmonella bongori*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, *Serratia odorifera*, *Serratia proteamaculans*, *Shewanella amazonensis*, *Shewanella baltica*, *Shewanella benthica*, *Shewanella halifaxensis*, *Shewanella loihica*, *Shewanella oneidensis*, *Shewanella pealeana*, *Shewanella piezotolerans*, *Shewanella sediminis*, *Shewanella violacea*, *Shewanella woodyi*, *Shigella flexneri*, *Vibrio aestuarianus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio angustum*,
 55 *Vibrio brasiliensis*, *Vibrio campbellii*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio diazotrophicus*, *Vibrio fischeri*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio ichthyenteri*, *Vibrio mediterranei*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio nereis*, *Vibrio nigripulchritudo*, *Vibrio ordalii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio pomeroyi*, *Vibrio scopthalmi*, *Vibrio shilonii*, *Vibrio sinaloensis*, *Vibrio splendidus*, *Vibrio tubiashii*,
 60 *Vibrio vulnificus*, *Vibrio xuii*, *Yersinia rohdei*.

Dentro de las bacterias productoras de AI-2 Gram negativas, las únicas especies en las que a su vez se ha descrito la producción de señales de QS tipo AHL (acil homoserín lactonas) son aquellas

pertenecientes al género *Vibrio*. Por tanto, las especies del género *Vibrio* son las únicas que producen ambos tipos de señales de QS: AHL y AI-2.

5 Se entiende por "bacteria productora de AI-2 Gram positiva" cualquier especie seleccionada de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*,
 10 *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulosilyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*,
 15 *Bifidobacterium breve*, *Brachybacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*,
 20 *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*,
 25 *Kurthia sp.*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*,
 30 *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*,
 35 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*,
 40 *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*.

30 En una realización preferida de la invención, las bacterias productoras de AI-2 producen biofilm o un factor de virulencia mediante un proceso mediado por AI-2.

En otra realización preferida de la invención, las bacterias productoras de la señal AI-2 son Gram positivas. En una realización más preferida, las bacterias Gram positivas se seleccionan de la lista que
 35 consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulosilyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachybacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*,
 40 *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Kurthia sp.*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*,
 45 *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*,
 50 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*,
 55 *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*.

60 En una realización más preferida de la invención, las bacterias Gram positivas son *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus mutans*.

Staphylococcus aureus es un patógeno que puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o

conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria. En la actualidad, este microorganismo se encuentra como el principal causante de las infecciones nosocomiales. Esta situación se ve favorecida por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado o incluso con otro paciente. Esta especie forma biopelículas que colonizan catéteres, drenajes e implantes, favoreciendo la contaminación y la resistencia a antibióticos.

Las cepas habituales de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la penicilina, dejando como los antibióticos más eficaces para combatirlos a los aminoglucósidos, las cefalosporinas, la oxacilina o la nafcilina. La aparición de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina y vancomicina representa un serio problema sanitario. Su patogenicidad está determinada por la presencia de adhesinas asociadas a su superficie, superantígenos, exoenzimas y exotoxinas que están reguladas por distintos sistemas regulatorios, entre el que se encuentra el sistema de QS Agr (*accessory gene regulator*), mediado por señales de tipo peptídico, y que controla la expresión de aproximadamente 150 genes. *S. aureus* también presenta un gen *luxS* funcional, y posee la capacidad de producir la molécula señal AI-2.

Streptococcus mutans es un importante patógeno de la cavidad oral, que también forma biopelículas y que ha sido identificado como uno de los responsables de la formación de la placa dental.

En la presente invención se entiende por “*quorum quenching*” o “QQ” el mecanismo mediante el cual se interfiere en la comunicación microbiana, preferiblemente de bacterias patógenas, mediada por señales basadas en un sistema *quorum sensing* o QS, preferiblemente mediado por AI-2. Este mecanismo QQ afecta negativamente a, por ejemplo, aunque sin limitarnos, la expresión de factores de virulencia de la población microbiana sin provocar la muerte celular.

Dado que la cepa bacteriana de la invención es capaz de interferir con las señales AI-2, y por tanto de impedir la producción de factores de virulencia por parte de importantes patógenos, ello impedirá que dicho patógeno pueda coordinar su ataque y por tanto lanzar una infección. Por ello, el uso de la cepa de la invención puede permitir el tratamiento y la prevención de enfermedades infecciosas provocadas por patógenos que produzcan la señal de quórum AI-2.

Por tanto, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de la cepa de la invención, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o de cualquiera de sus combinaciones, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones provocadas por bacterias productoras de la señal de *quorum sensing* AI-2. En una realización preferida, las bacterias productoras de AI-2 responsables de la infección producen biofilm o un factor de virulencia mediante un proceso mediado por AI-2. Preferiblemente, las bacterias productoras de la señal AI-2 responsables de la infección son Gram positivas. En una realización más preferida, las bacterias Gram positivas se seleccionan de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulosilyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachybacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Kurthia sp.*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefirifaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*, *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus*

pneumoniae, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. En una realización más preferida de la invención, las bacterias Gram positivas son *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus mutans*.

5

En una realización aun más preferida, las infecciones provocadas por bacterias productoras de la señal AI-2 son debidas a la formación de biofilms. Las bacterias Gram positivas que forman biofilm pueden ser, pero sin limitarse, bacterias de la cavidad oral tales como las causantes de caries y enfermedad periodontal. Por ello, en una realización más preferida, el biofilm es placa dental.

10

Los biofilms bacterianos son una causa común de infecciones bacterianas, tanto en humanos, como en animales y plantas. Los biofilms o biopelículas, tal y como se definen en esta memoria, son comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz de exopolisacáridos y adheridos a una superficie inerte o un tejido vivo. Es una comunidad de bacterias (de una única especie o varias), que se adhiere a una superficie sólida. Se ha demostrado el papel de la molécula de QS AI-2 en la formación de biopelículas de los patógenos oportunistas Gram-positivos como por ejemplo, aunque sin limitarnos, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y de distintas especies de *Streptococcus*, incluyendo la cepa involucrada en la formación de la placa dental *S. mutans*. La inhibición de las señales tipo AI-2 permitiría inhibir la formación de biopelículas formadas por procesos controlados por QS, tal y como demuestra el efecto de distintas furanonas, moléculas capaces de interferir en los procesos de QS, sobre la formación de biopelículas por parte de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans*.

15

20

25

Los mecanismos por los que el biofilm produce los síntomas de la enfermedad todavía no están completamente establecidos, pero se ha sugerido que las bacterias del biofilm pueden producir exotoxinas, se pueden liberar grupos de bacterias al torrente sanguíneo, se vuelven resistentes a la acción fagocitaria de las células del sistema inmune y por otro lado, constituyen un nicho para la aparición de bacterias resistentes a los tratamientos antibióticos. Este último aspecto puede ser especialmente relevante dado que las bacterias resistentes originadas en un biofilm podrían extenderse de paciente a paciente a través de las manos del personal sanitario.

30

35

La placa dental o bacteriana, llamada también biofilm dental, es una capa blanda y pegajosa que se encuentra en la boca y que crece adhiriéndose en la parte baja de los dientes, cerca de las encías. Se trata de una acumulación heterogénea de una comunidad microbiana variada, aerobia y anaerobia, rodeada por una matriz intercelular de polímeros de origen salival y microbiano. Estos microorganismos pueden adherirse o depositarse entre los dientes y/o sobre las paredes de las piezas dentarias. Si los microorganismos consiguen los sustratos necesarios para sobrevivir y persisten mucho tiempo sobre la superficie dental, pueden organizarse y causar caries, gingivitis o enfermedad periodontal (enfermedades de las encías).

40

45

Por otro lado, como se ha explicado anteriormente, la contaminación biológica de superficies por formación de biofilms es común, pudiendo desarrollarse el biofilm sobre superficies hidrófobas, hidrófilas, bióticas o abióticas, y conduce a la degradación del material, productos de contaminación, bloqueo mecánico e impedancia de la transferencia de calor en procesos acuáticos. Los biofilms son también la primera causa de la contaminación biológica de sistemas de distribución de agua potable, y otras conducciones, siendo especialmente importante el control de biofilms en los sistemas antiincendios.

50

Por ello, otro aspecto de la invención se refiere al uso de la cepa de la invención, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o de cualquiera de sus combinaciones, para inhibir la formación *ex vivo* de biofilms producidos por bacterias productoras de la señal AI-2. Dicha formación *ex vivo* se refiere a la formación de biofilms fuera del cuerpo humano o animal.

55

Además, el uso de la cepa bacteriana de la invención en combinación con antibióticos u otros agentes antibacterianos puede ser una estrategia interesante en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades infecciosas provocadas por patógenos multi-resistentes y en la inhibición de la formación *ex vivo* de biofilms. Por ello, otra realización preferida de la invención se refiere a todos los usos descritos en la presente invención de la cepa de la invención, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o de cualquiera de sus combinaciones, en combinación con antibióticos u otros agentes antibacterianos.

60

Como se ha mencionado anteriormente, la cepa de la invención no interviene en la supervivencia del patógeno, sino que afecta a las señales de virulencia y/o señales responsables de la formación de biofilms por parte del mismo. Además, dichas señales son producidas por multitud de patógenos, por lo que la cepa de la invención puede ser utilizada para prevenir múltiples infecciones bacterianas al mismo

tiempo y por tanto para mejorar la salud, la supervivencia o la productividad de los animales de forma general.

5 Por ello, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de la cepa de la invención, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o de cualquiera de sus combinaciones, para la elaboración de un aditivo para alimentación animal. Se entiende por “aditivo para alimentación animal” cualquier sustancia, microorganismo y/o preparado que se añade intencionadamente a los piensos o al agua en contacto con los animales a fin de realizar una o varias de las funciones siguientes: influir positivamente en la producción, la actividad, la salud o el bienestar de los animales, ya sea a través de la prevención de infecciones, o a través de su actuación en la flora gastrointestinal o la digestibilidad de los piensos, influir positivamente en la supervivencia de los animales, influir positivamente en las características de los productos animales, influir positivamente en las características del pienso, satisfacer las necesidades alimenticias de los animales, o influir positivamente en las repercusiones medioambientales de la producción animal. En una realización preferida de la invención, el aditivo para alimentación animal es utilizado para influir positivamente en la productividad de los animales sanos, mejorar la salud de los animales y/o prevenir infecciones bacterianas por parte de bacterias productoras de AI-2. Más preferiblemente, dichas bacterias productoras de AI-2 son Gram positivas.

20 Un aditivo para alimentación animal puede tomar la forma de microorganismos vivos o de extracto celular obtenido a partir de los mismos, entre otros.

25 Por ello, en una realización preferida de este aspecto de la invención, el aditivo para alimentación animal es un probiótico. Se entiende por “probiótico” cualquier aditivo para alimentación animal que comprende microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino y ejercen efectos fisiológicos. Ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos muy beneficiosos, como contribuir al equilibrio de la flora bacteriana intestinal del huésped y potenciar el sistema inmunitario.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de una composición, de ahora en adelante “composición de la invención”, que comprende un elemento seleccionado de la lista que consiste en:

- 30 a. una cepa bacteriana depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo con número de depósito CECT 7426,
b. el extracto celular crudo de un cultivo de la cepa bacteriana de a),
c. el sobrenadante de un cultivo de la cepa bacteriana de a),

35 o cualquiera de sus combinaciones, para provocar *quorum quenching* en bacterias productoras de la señal AI-2.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones provocadas por bacterias productoras de la señal AI-2. En una realización preferida, las bacterias productoras de AI-2 responsables de la infección producen biofilm o un factor de virulencia mediante un proceso mediado por AI-2. Preferiblemente, las bacterias productoras de la señal AI-2 son Gram positivas. En una realización más preferida, las bacterias Gram positivas se seleccionan de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*,
45 *Bacillus cellulolyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachybacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*,
50 *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Kurthia sp.*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefirifaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*,
55 *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*, *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*,
60 *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*,

Streptococcus pneumoniae, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. En una realización más preferida de la invención, las bacterias Gram positivas son *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus mutans*.

5

En una realización aun más preferida, las infecciones provocadas por bacterias productoras de la señal AI-2 son debidas a la formación de biofilms. En una realización aun más preferida, el biofilm es placa dental.

10

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de la composición de la invención para inhibir la formación *ex vivo* de biofilms producidos por bacterias productoras de la señal AI-2. Preferiblemente, las bacterias productoras de la señal AI-2 son Gram positivas. En una realización más preferida, las bacterias Gram

15

positivas se seleccionan de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulosilyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachy bacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*,

20

Corynebacterium tuberculostearicum, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Kurthia sp.*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefirifaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*,

25

Lactobacillus reuteri, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*, *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*,

30

Staphylococcus carnosus, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*,

35

Streptococcus pneumoniae, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*. En una realización más preferida de la invención, las bacterias Gram positivas son *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus mutans*.

40

En otra realización preferida, la composición de la invención además comprende al menos un antibiótico y/u otro agente antibacteriano.

Un "agente antibacteriano" u "antibiótico" es una sustancia química sintética o natural (sintetizada por hongos o bacterias) que inhibe el crecimiento (bacteriostático) o mata (bactericida) a las bacterias.

45

Los antibióticos o agentes antibacterianos a los que se refiere la presente invención son compuestos que no comprometen la viabilidad y supervivencia de la cepa de la invención. Ejemplos de este tipo de antibióticos u agentes antibacterianos son, aunque sin limitarnos: amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, paromomicina, geldanamina, herbimicina,

50

loracarbef, ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatin, meropenem, cefadroxilo, cefazolina, cefalotina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepime, ceftobiprole, teicoplanin, vancomicina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, roxitromicina, troleandomicina, telitromicina, espectinomicina, aztreonam, amoxicilina, ampicilina, azlocilina,

55

carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, mezlocilina, metilicina, nafcilina, oxacilina, penicilina, piperacilina, ticarcilina, bacitracina, colistina, ciprofloxacino, enoxacino, gatifloxacino, levofloxacino, lomefloxacino, moxifloxacino, norfloxacino, ofloxacino, trovafloxacino, grepafloxacino, sparfloxacino, temafloxacino, mafenide, sulfonamidocrisoidina, sulfacetamida, sulfadiazina, sulfametizol, sulfanilimida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol (co-trimoxazol), demeclociclina,

60

doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina, arsfenamida, cloranfenicol, clindamicina, lincomicina, etambutol, fosfomicina, ácidofusídico, furazolidona, isoniácida, linezólida, metronidazol, mupirocina, nitrofurantoina, platensimicina, pirazinamida, quinupristin/dalfopristin, rifampicina, tiamfenicol, tinidazol, dapsona y clofazimina.

La composición de la invención puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un excipiente.

5 El término “excipiente” hace referencia a una sustancia que ayuda a la absorción de los elementos de la composición de la invención, estabiliza dichos elementos, activa o ayuda a la preparación de la composición en el sentido de darle consistencia. Así pues, los excipientes podrían tener la función de mantener los ingredientes unidos, como por ejemplo es el caso de almidones, azúcares o celulosas, la función de endulzar, la función de colorante, la función de protección de la composición, como por ejemplo, para aislarla del aire y/o la humedad, la función de relleno de una pastilla, cápsula o cualquier otra forma de presentación, como por ejemplo, es el caso del fosfato de calcio dibásico, la función desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción, sin excluir otro tipo de excipientes no mencionados en este párrafo.

15 El “vehículo farmacéuticamente aceptable”, al igual que el excipiente, es una sustancia que se emplea en la composición para diluir cualquiera de los componentes comprendidos en ella hasta un volumen o peso determinado. El vehículo farmacológicamente aceptable es una sustancia inerte o de acción análoga a cualquiera de los elementos comprendidos en la composición de la presente invención. La función del vehículo es facilitar la incorporación de otros elementos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma a la composición. Cuando la forma de presentación es líquida, el vehículo farmacológicamente aceptable es el diluyente.

25 La composición de la presente invención puede formularse para su administración a un animal, preferiblemente a un mamífero, incluyendo al hombre, en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica. Como ejemplos de preparaciones se incluye cualquier composición sólida (comprimidos, píldoras, cápsulas, gránulos, etc.) o líquida (soluciones, suspensiones o emulsiones) para administración oral, tópica o parenteral. La composición de la presente invención también puede estar en forma de formulaciones de liberación sostenida de drogas o de cualquier otro sistema convencional de liberación, así puede estar contenida, aunque sin limitarnos, en nanopartículas, liposomas o nanosferas, en un material polimérico, en un implante biodegradable o no biodegradable o en micropartículas biodegradables, como por ejemplo, microesferas biodegradables.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de la composición de la invención para la elaboración de un aditivo para alimentación animal. En una realización preferida, el aditivo para alimentación animal es un probiótico.

35 El término “medicamento”, tal y como se usa en esta memoria, hace referencia a cualquier sustancia usada para prevención, alivio, tratamiento o curación de infecciones en el hombre, animales y plantas. En el contexto de la presente invención este término se refiere a una preparación que comprenda al menos una cepa bacteriana de la invención, el extracto celular crudo de un cultivo de la cepa bacteriana de la invención, el sobrenadante de un cultivo de la cepa bacteriana de la invención o la composición de la invención. Las infecciones son provocadas por bacterias patógenas productoras de AI-2, preferiblemente Gram positivas.

45 El medicamento al que se refiere la presente invención puede ser de uso humano o veterinario. El “medicamento de uso humano” es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico. El “medicamento de uso veterinario” es toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades curativas o preventivas con respecto a las enfermedades animales o que pueda administrarse al animal con el fin de restablecer, corregir o modificar sus funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico veterinario, incluyendo, pero sin limitarse, a las premezclas medicamentosas. Se entiende por “premezcla medicamentosa” o “premezcla para alimentos medicamentosos”, todo medicamento veterinario preparado de antemano con vistas a la fabricación ulterior de alimentos medicamentosos. Se entiende por “alimento medicamentoso” a toda mezcla de medicamento(s) veterinario(s) y de alimento(s) preparada previamente a su comercialización y destinada a ser administrada a los animales sin transformación, en razón de las propiedades curativas o preventivas o de otras propiedades del medicamento.

60 Los medicamentos de la invención comprenden la cepa bacteriana de la invención, el extracto celular crudo de un cultivo de la cepa bacteriana de la invención, el sobrenadante de un cultivo de la cepa bacteriana de la invención o la composición de la invención en una cantidad terapéuticamente efectiva, que es capaz de prevenir o tratar enfermedades infecciosas bacterianas provocadas por bacterias

productoras de AI-2 o de inhibir la formación de biofilms provocados por estas bacterias. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" es el nivel, cantidad o concentración de cepa de la invención, de extracto celular crudo de un cultivo de la cepa bacteriana de la invención o de sobrenadante de un cultivo de la cepa bacteriana de la invención, que produzca el efecto deseado tratando y/o previniendo una infección provocada por bacterias productoras de AI-2, preferiblemente Gram positivas. La dosificación para obtener una cantidad terapéuticamente efectiva depende de una variedad de factores, como por ejemplo, la edad, peso, sexo, tolerancia o tipo de infección que presente el individuo al que le va a ser administrado el medicamento de la invención.

El término "prevención", tal como se entiende en la presente invención, se refiere a evitar la aparición de daños cuya causa sean infecciones bacterianas o la formación de biofilms provocados por bacterias productoras de AI-2, preferiblemente Gram positivas.

El término "tratamiento", tal como se entiende en la presente invención, supone combatir los efectos causados por infecciones bacterianas o por la formación de biofilms provocados por bacterias productoras de AI-2, para estabilizar el estado del hombre, animal o planta, o prevenir daños posteriores. Preferiblemente, la bacteria productora de AI-2 es Gram positiva.

El término "infección" es el término clínico para describir la colonización de un organismo huésped por microorganismos de otras especies. En la utilización clínica del término infección, el organismo colonizador es perjudicial para el funcionamiento normal y supervivencia del huésped.

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

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIG. 1. Efecto de los ECCs (Extracto Celular Crudo) de la cepa 20J a una concentración de 100 microgramos por mL sobre la formación de biofilms en placas de micropocillos con *Streptococcus mutans* (a) y *Staphylococcus aureus* (b) medidas como índice celular con un *Xcelligence System* (Roche). Controles: medio de cultivo (ICC+Sac 0.1% o TSB+0,25% Glu). La molécula de *quorum quenching* furanona C30 (Fur-C30) también se ensayó a una concentración de 0,1 micromolar.

FIG. 2. Evolución temporal (5-24 horas) de la producción de luz en diferentes cepas de la especie marina bioluminiscente *Vibrio harveyi* cultivadas en medio AB en placas de micropocillos (columnas de la izquierda, C) y en medio AB con la adición de CCEs (Extracto Celular Crudo) de la cepa 20J (columnas de la derecha, 100 ug / ml de proteína). La cepa BB120 es la cepa salvaje en la que los tres sistemas de QS que controlan la producción de luz están activos (AHL+, AI-2+, CAI-1+). El efecto QQ de los extractos de la cepa 20J (20J-CCE) se hace evidente en el retraso en la aparición de la luz. En la cepa BB170 sólo los canales de AI-2 y CAI-1 están activos, y por lo tanto la producción de luz en esta cepa biosensora no se ve afectada por la actividad de QQ mediada por AHL. En esta cepa también es evidente que la adición de los ECCs de la cepa 20J retrasa la producción de luz. Por último, en la cepa JMH597 sólo el canal de AI-2 está activo (AHL-, AI-2 +, CAI-1-) y no se produce luz en la columna de la derecha. Estos resultados son consistentes con la hipótesis de la presencia de actividad QQ contra AI-2 en el extracto de la cepa 20J (20J-CCE).

FIG. 3. Crecimiento, medido como densidad óptica, de *V. harveyi* BB170 en medio AB con distintas concentraciones de Extracto Celular Crudo (CCE) de la cepa *Tenacibaculum discolor* 20J. Estos resultados demuestran que los cambios producidos por el ECC de 20J en la producción de luz por esta cepa (Figura 2) no derivan de una acción sobre el crecimiento, sino sobre el sistema de señales que controla los genes de la luciferasa.

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto que tanto la cepa 20J como sus extractos son capaces de interferir con las señales AI-2 en una cepa biosensora de *V. harveyi*, y además que son capaces de inhibir la formación de biofilms por parte de importantes patógenos Gram positivos como *S. mutans* (típico de la cavidad oral y responsable de la formación de caries y de placa dental) y *S. aureus*, que utilizan la señal AI-2 como mediadora para la formación de estos biofilms. Estos ejemplos específicos que se proporcionan sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención y se incluyen solamente con fines ilustrativos, por lo que no han de

ser interpretados como limitaciones a la invención que aquí se reivindica. Por tanto, los ejemplos descritos más adelante ilustran la invención sin limitar el campo de aplicación de la misma.

5 **Ejemplo 1.-Interferencia de Extractos Crudos de la cepa 20J con la formación de biofilms de bacterias Gram-positivas.**

10 La cepa 20J fue seleccionada por su alta capacidad para degradar un amplio rango de señales AHLs, señales producidas por bacterias Gram negativas para comunicarse y coordinar sus acciones. Se evaluó si extractos de la cepa 20J podían interferir con la formación de biofilms. Algunos patógenos orales cruciales como *S. mutans*, relacionados con la formación de caries, son bacterias Gram positivas que no producen AHLs y que por tanto no se espera que se vean afectadas por la acción de los CCEs (extractos celulares crudos) de la cepa 20J. Sin embargo, dado que la placa dental es un consorcio de bacterias Gram positivas y Gram negativas, se estudió si la acción de los CCEs de la cepa 20J podría interferir con la formación de este tipo de biofilms. Los experimentos se llevaron a cabo empleando un *XCelligence system* (Roche) para la monitorización online de la formación de biofilm en los pocillos. Se añadieron 8 μ L de CCE a 200 μ L de una mezcla 1:1 de medio:saliva. También se ensayó la misma cantidad de CEE sobre cultivos puros de *S. mutans* (responsable de la formación de caries) y una cepa de *S. aureus* (dos bacterias que no producen AHLs, sino AI-2). La furanona C30, una molécula que interfiere con los sistemas de QS basados en AHL y con los basados en AI-2, también se testó como control positivo. La adición de extractos de la cepa 20J produjo una fuerte inhibición en la formación de biofilms por parte de *S. mutans* (Figura 1a). La furanona también produjo una inhibición en la formación de biofilm, pero en un grado mucho menor que el extracto de 20J. Un efecto inhibitorio similar se observó sobre los biofilms de *Staphylococcus aureus* (Figura 1b). También se observó un efecto inhibitorio similar en los biofilms orales (datos no mostrados), aunque la reducción del índice celular no fue tan dramático como para los biofilms de *S. aureus* y *S. mutans*.

25 Se llevó a cabo un segundo experimento en el que se testaron los CCEs de las cepas 20J y 177, esta última una cepa de α -Proteobacteria depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) con número de depósito CECT 7733 y descrita en el documento de patente ES2372247 B2. Se confirmó el efecto inhibitorio de los extractos CCEs de 20J sobre la formación de biofilms de *S. mutans* y *S. aureus* (datos no mostrados). Además, para confirmar que el efecto observado en la inhibición de la formación de biofilms no era debido a una inhibición del crecimiento de los patógenos por parte de la cepa 20J, se evaluó la adición de extractos de la cepa 20J a cultivos planctónicos (sin condiciones de inducción de formación de biofilm) de los patógenos mediante monitorización de la D.O. (densidad óptica). No se observó inhibición del crecimiento de los patógenos en cultivo, por lo que se constató que el efecto inhibitorio observado en la formación de biofilms en los pocillos es debido a la interferencia de 20J con los mecanismos de adherencia de los patógenos, y no a un efecto inhibitorio en su crecimiento. Sin embargo, esto no significa que los extractos CCEs de 20J actúen específicamente a través de la interferencia con los procesos de QQ implicados en la formación de biofilms. El CCE de la cepa 177 no tuvo un efecto significativo sobre la formación de biofilm por parte de estas dos especies patógenas.

30 **Ejemplo 2.- Interferencia de los extractos celulares de 20J con los sistemas de QS mediados por AI-2.**

45 Dado que ninguna de las cepas testadas en los experimentos de biofilms producen AHLs, pero sí AI-2, una hipótesis alternativa para explicar la interferencia con la formación de biofilms es que los CCEs de 20J interfieren con los canales de QS de AI-2 a través del mismo o distinto mecanismo que el que afecta los canales de QS mediados por AHLs. Para ello, se emplearon cepas mutantes de *V. harveyi* que tienen afectados distintos canales de QS. *V. harveyi* tiene 3 canales de QS distintos que actúan simultáneamente para controlar la producción de bioluminiscencia: un canal mediado por AHL, un canal mediado por AI-2 y un tercer canal mediado por una señal llamada CAI. Se añadieron extractos crudos de 20J a cultivos de la cepa salvaje (BB120), de la cepa BB170, que sólo detecta señales AI-2 y CAI, y a cultivos de la cepa JMH597, que detecta únicamente AI-2. Como se observa en la Figura 2, la adición de extractos de 20J (columna derecha para cada cepa sensora) retrasa considerablemente la producción de luz en la cepa salvaje y la cepa BB170, mientras que la producción de luz está completamente inhibida en la cepa JMH597, que depende exclusivamente de la acción de AI-2 para la producción de luz. Estos resultados demuestran que los extractos celulares de la cepa 20J interfieren con las señales AI-2 en *V. harveyi*, lo cual explica su efecto inhibitorio sobre la formación de biofilms por parte de *S. mutans* y *S. aureus*.

60 Por último, se midió el crecimiento de la cepa biosensora BB170 (AH-, AI-2+, CA-1+) en presencia de distintas concentraciones de extracto de la cepa 20J (Figura 3). No se observó inhibición del crecimiento. Al contrario, altas concentraciones de extractos de la cepa 20J estimularon el crecimiento de la cepa

biosensora, lo cual aceleraría, y no retrasaría, la producción de luz, a no ser que el sistema de QS-AI2 esté siendo bloqueado por el extracto celular.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una composición que comprende un elemento seleccionado de la lista que consiste en:
- 5 a. una cepa bacteriana de *Tenacibaculum discolor* depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo con número de depósito CECT 7426,
- b. el extracto celular crudo de un cultivo de la cepa bacteriana de a),
- c. el sobrenadante de un cultivo de la cepa bacteriana de a),
- o cualquiera de sus combinaciones, para provocar *quorum quenching* en bacterias productoras de la señal AI-2.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1 donde la composición es para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de infecciones provocadas por bacterias productoras de la señal AI-2.
- 15 3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, donde las bacterias productoras de la señal AI-2 son Gram positivas.
4. Uso según la reivindicación 3, donde las bacterias Gram positivas se seleccionan de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulosilyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachy bacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*,
- 20 *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecium*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia polyisoprenivorans*, *Kurthia sp.*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus kefirano faciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus versmoldensis*, *Lentibacillus sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium sp.*, *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus scapharcae*, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus donghaensis*, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*, *Sporosarcina newyorkensis*, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitis*,
- 25 *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simiae*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium saccharolyticum*, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*.
- 30 5. Uso según la reivindicación 4, donde las bacterias Gram positivas son *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus mutans*.
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, donde las infecciones provocadas por bacterias productoras de la señal AI-2 son debidas a la formación de biofilms.
- 50 7. Uso según la reivindicación 6, donde el biofilm es placa dental.
8. Uso según la reivindicación 1 donde la composición es para inhibir la formación *ex vivo* de biofilms producidos por bacterias productoras de la señal AI-2.
- 55 9. Uso según la reivindicación 8, donde las bacterias productoras de la señal AI-2 son Gram positivas.
10. Uso según la reivindicación 9, donde las bacterias Gram positivas se seleccionan de la lista que consiste en: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces sp.*, *Aerococcus viridans*, *Alkaliphilus oremlandii*, *Arthrobacter arilaitensis*, *Bacillus cellulosilyticus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus macauensis*, *Bacillus selenitireducens*, *Bacillus smithii*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Brachy bacterium faecium*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium glucuronolyticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium kroppenstedtii*,
- 60

- 5 *Corynebacterium pseudogenitalium*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium tuberculostearicum*,
Clostridium botulinum, *Clostridium cellulovorans*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sporogenes*,
Enterococcus faecium, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Gordonia*
10 *polyisoprenivorans*, *Kurthia* sp., *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus*
crispatus, *Lactobacillus farciminis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus*
johnsonii, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus mucosae*, *Lactobacillus rhamnosus*,
Lactobacillus reuteri, *Lactobacillus ultunensis*, *Lactobacillus verismoldensis*, *Lentibacillus* sp., *Listeria*
15 *monocytogenes*, *Mycobacterium* sp., *Mycobacterium intracellulare*, *Oenococcus oeni*, *Ornithinibacillus*
scapharcae, *Paenibacillus alvei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Planococcus antarcticus*, *Planococcus*
donghaensis, *Propionibacterium acnes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Solibacillus silvestris*,
Sporosarcina newyorkensis, *Staphylococcus arlettae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*
capitis, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus epidermidis*,
Staphylococcus haemolyticus, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus lugdunensis*,
20 *Staphylococcus pettenkoferi*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus saprophyticus*,
Staphylococcus simiae, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus criceti*,
Streptococcus cristatus, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*,
Streptococcus oralis, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus*
pyogenes, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus suis*, *Thermoanaerobacterium*
saccharolyticum, *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum*.
- 25 11. Uso según la reivindicación 10, donde las bacterias Gram positivas son *Staphylococcus aureus* o
Streptococcus mutans.
12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde la composición además comprende al
menos un antibiótico u otro agente antibacteriano.
13. Uso según la reivindicación 1 donde la composición es un aditivo para alimentación animal.
- 30 14. Uso según la reivindicación 13 donde el aditivo para alimentación animal es un probiótico.

FIG.1a

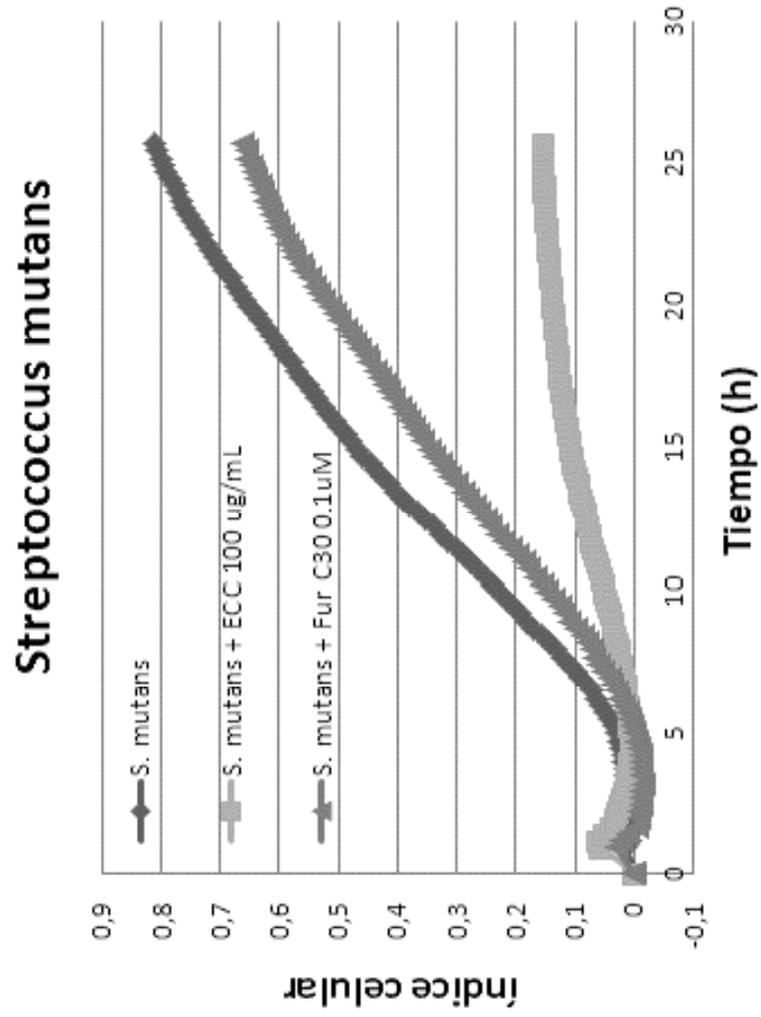


FIG.1b

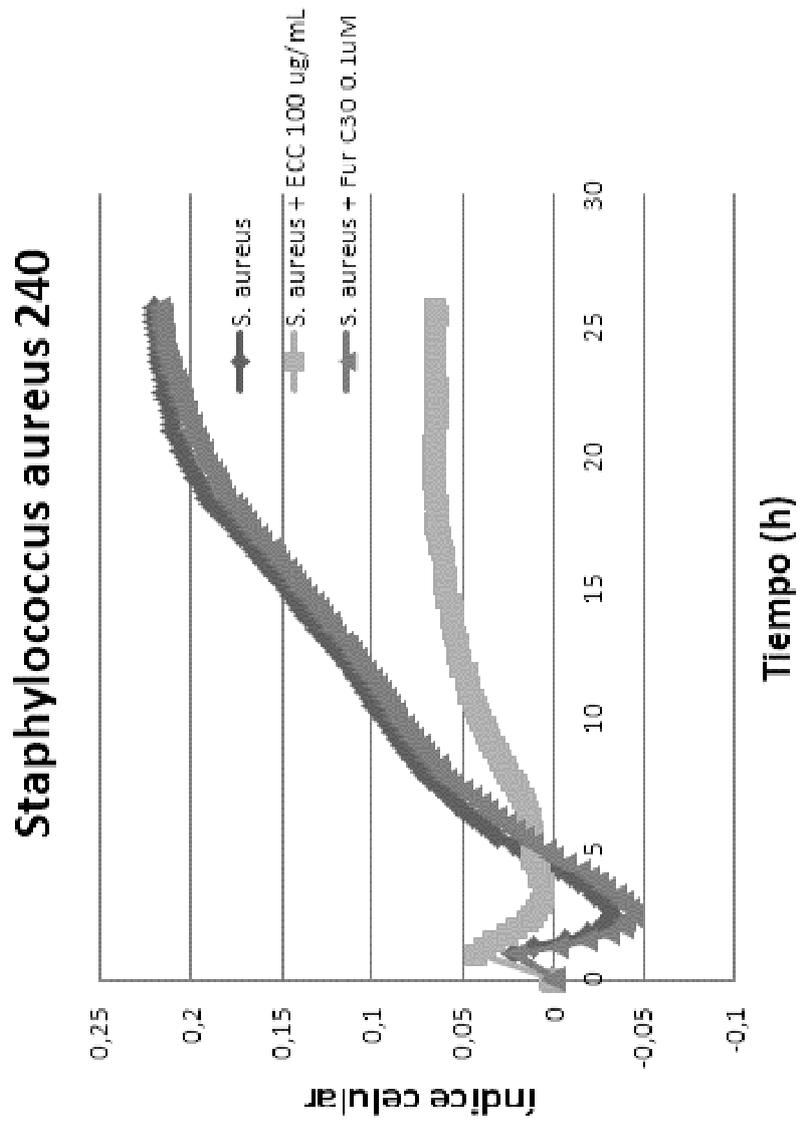


FIG.2

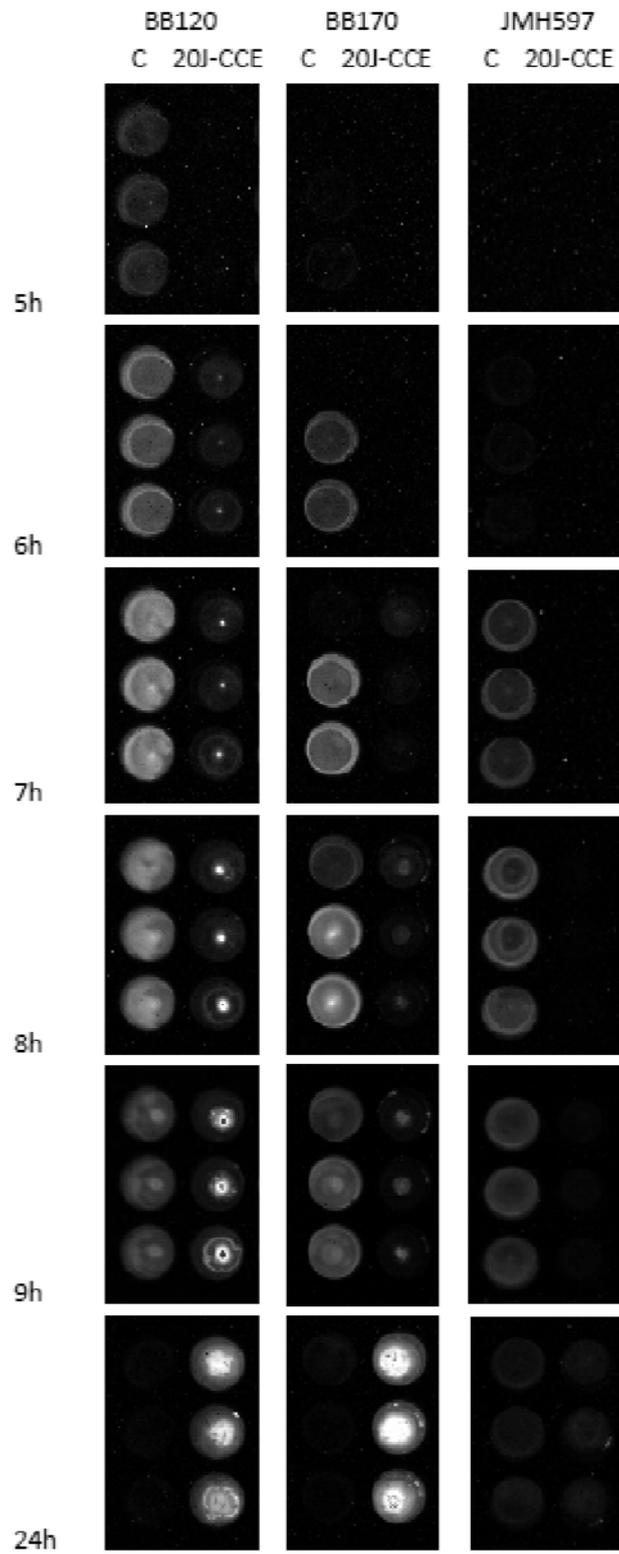
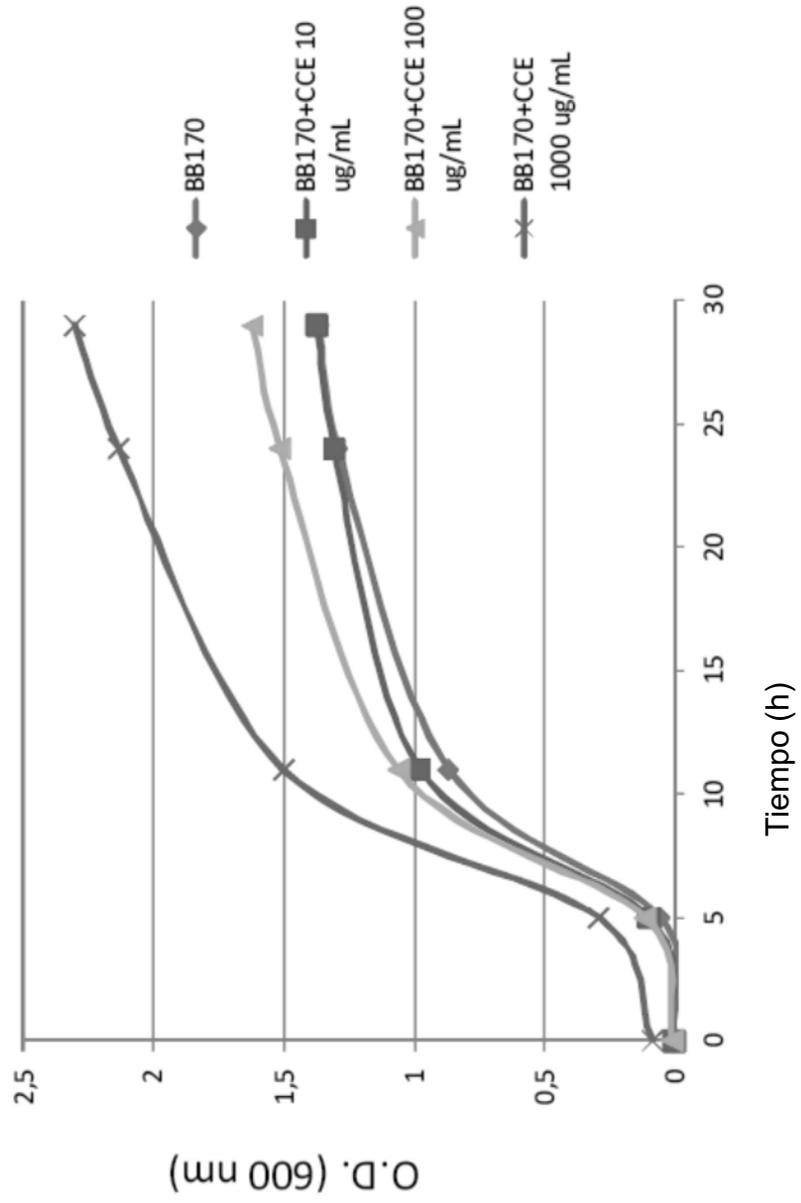


FIG.3





OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201231552

②② Fecha de presentación de la solicitud: 09.10.2012

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K35/74** (2006.01)
A61P31/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2342807 A1 (UNIV SANTIAGO COMPOSTELA) 14.07.2010, todo el documento.	1-14
A	ROMERO M. et al. Acylhomoserine lactone production and degradation by the fish pathogen <i>Tenacibaculum maritimum</i> , a member of the <i>Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides</i> (CFB) group. FEMS Microbiol Lett. 03.2010, Vol. 304, páginas 131-39, todo el documento.	1-14
A	US 2003229000 A1 (MERRITT et al.) 11.12.2003, todo el documento.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
28.11.2013

Examinador
M. Cumbreño Galindo

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE, NPL, EMBASE, BIOSIS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.11.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-14	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-14	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2342807 A1 (UNIV SANTIAGO COMPOSTELA)	14.07.2010
D02	ROMERO M. et al. FEMS Microbiol Lett. Vol. 304, páginas 131-139	03.2010
D03	US 2003229000 A1 (MERRITT et al.)	11.12.2003

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente invención tiene por objeto el uso de una cepa bacteriana de *Tenacibaculum discolor* depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) con el número de depósito CECT 7426, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o cualquiera de sus combinaciones, para *quorum quenching* en bacterias productoras de la señal AI-2 (reivindicaciones 1 a 14).

D01 anticipa el uso de *Tenacibaculum discolor* con número de depósito CECT 7426, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, capaces de degradar N-Acil homoserin lactonas, para *quorum quenching*, en el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas o para inhibir la formación de biofilms.

D02 expone que *Tenacibaculum maritimum* produce señales de *quorum sensing* a través de N-Acil homoserin lactonas al mismo tiempo que ejerce una actividad de *quorum quenching*, lo que puede representar una nueva estrategia para el tratamiento de infecciones en acuicultura.

D03 divulga que la prevención y tratamiento de la formación de biofilms implica el contacto de la superficie con un agente que incrementa la señal dependiente de LuxS en una bacteria, siendo dicho agente un autoinductor denominado autoinductor-2.

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA

D01 anticipa el uso de *Tenacibaculum discolor* con número de depósito CECT 7426, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, capaces de degradar N- Acil homoserin lactonas, para *quorum quenching*, en el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas o para inhibir la formación de biofilms.

En la literatura constituida por documentos de patentes y por publicaciones científicas se ha encontrado el uso de *Tenacibaculum discolor* depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) con el número de depósito CECT 7426, del extracto celular crudo o del sobrenadante de sus cultivos, o cualquiera de sus combinaciones, para *quorum quenching* aunque no en bacterias productoras de la señal AI-2. Por consiguiente, las reivindicaciones 1-14 se pueden considerar nuevas a la vista del estado de la técnica pero no presentan actividad inventiva.