

COMPOSICIÓN DESINFECTANTE DE ALTA FIJACIÓN A SUPERFICIES

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención pertenece al campo de la industria química sanitaria, particularmente en composiciones antimicrobianas y desinfectantes de alta fijación a superficies, mediante la creación de una red tridimensional nanométrica y procesos para su producción.

DESCRIPCIÓN DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

10

Las sales de amonio cuaternario en concentraciones apropiadas son compuestos que han sido empleados en aplicaciones como desinfectantes, agentes antimicrobianos y pesticidas. Múltiples estudios han demostrado su capacidad de mermar la acción de microorganismos, fijándose a la superficie de estos, inhibiendo las funciones de la pared celular y de la membrana
15 citoplasmática. Debido a esto composiciones desinfectantes que contienen sales de amonio cuaternario con al menos un surfactante y al menos un solvente orgánico han sido desarrolladas y comercializadas.

20

La transmisión de infecciones se realiza en muchos casos a través del contacto de un individuo con superficies contaminadas con virus o bacterias causantes de estas. La desinfección es uno de los pasos finales en los protocolos para la prevención de la permanencia y crecimiento de estos microorganismos en las superficies. Algunos productos de limpieza pueden ser efectivos para reducir la cantidad de microorganismos adheridos a las superficies de manera rápida, sin embargo, la duración de los efectos desinfectantes en el tiempo suele ser relativamente corta
25 con duraciones entre los 20 min y 3 horas después de ser aplicados. Esto es muy relevante en especial cuando se habla de la desinfección de espacios de alto tráfico como lo son el transporte público, hospitales, centros comerciales e instituciones educativas donde debido a la dificultad que se presenta para mantener o realiza un proceso de limpieza frecuente se requiere un efecto de desinfección más prolongado. Por lo tanto, se considera importante el desarrollo de
30 composiciones capaces de eliminar y/o evitar la contaminación por microorganismos patógenos

de manera eficaz, pero que puedan tener un efecto prolongado de desinfección tiempo después de haber sido aplicado el producto.

5 La patente WO 2018026692 que describe una composición desinfectante de uso especial para superficies metálicas que pueden ser fácilmente corroídas como aluminio y uso doméstico. La solución está compuesta principalmente por un compuesto de amonio cuaternario, peróxido de hidrogeno, agua y una solución activadora, entre los que se incluyen agentes reguladores de alcalinidad, agentes quelantes (como EDTA) y agua.

10 La patente JP 2010037295 hace referencia a una solución desinfectante compuesta por al menos un aminoácido, sales de amonio cuaternario y/o una biguanida y un surfactante no iónico, con características especiales para mejorar la aplicación del producto al esparcirlo con textiles absorbentes.

15 La patente WO 2018065190 hace referencia a composiciones antimicrobianas que comprenden amonios cuaternarios, alcoholes monohídricos y agentes quelantes (como ligandos polidentados).

20 La patente EP3501281A1 (FR3075569) describe composiciones desinfectantes para la desinfección de edificios ganaderos que comprenden amonios cuaternarios y glutaraldehído.

25 La patente ES 2202789 T3 describe composiciones desinfectantes a base de glutaraldehído y compuestos fenólicos que es un efectivo antimicrobiano debido al sinergismo entre la acción bactericida del fenol, particularmente sobre el *Mycobacterium tuberculosis* y la acción esporicida del aldehído glutárico.

30 La patente US6242526B1 divulga un material de recubrimiento antimicrobiano, adhesivo, sellador y elastomérico que comprende partículas de polímero que contienen látex y un componente tensioactivo primario donde las partículas se forman por la reacción de un monómero etilénicamente insaturado y un compuesto de amonio cuaternario antibacteriano

polimerizable. Así mismo en este documento se divulgan los aminosilanos y gamma-aminopropiltrietoxisilano como promotores de la adhesión de silano.

5 La patente US10638755B2 divulga composiciones antimicrobianas que comprenden un derivado de acetofenona y un agente antimicrobiano entre los que se incluyen triclosán, clorhexidina, glutaraldehído y amonios cuaternarios.

10 La patente US6828294B2 divulga composiciones desinfectantes de alta retención, especialmente en superficies irregulares y/o no horizontales y superficies en las que el agua no se extiende fácilmente la cual contiene un perácido orgánico, otro agente antimicrobiano, y un auxiliar de retención. En especial, el adyuvante de retención comprende una combinación de un tensioactivo no iónico, un tensioactivo iónico y opcionalmente una fuente de iones de magnesio soluble en agua. A su vez, el agente antimicrobiano comprende glutaraldehído y amonios cuaternarios.

15 La patente US8871700B2 se refiere a composiciones detergentes líquidas limpiadoras y desinfectantes que comprenden una sal metálica divalente, preferiblemente sal de Zn^{2+} y amonios cuaternarios o glutaraldehído.

20 El documento “*An In Vitro Bacterial Adhesion Assessment Of Surface-Modified Medical-Grade PVC*” de Asadinezhada et al del 2010 se refiere en general a la evaluación de adhesión bacteriana in vitro de PVC de grado médico modificado en superficie en la que se emplearon varios agentes antimicrobianos como cloruro de benzalconio y clorhexidina. En particular, se divulga que para garantizar la inmovilización de la clorhexidina, debido a la presencia de grupos
25 amina, se puso en contacto con glutaraldehído el cual actúa como un fijador homobifuncional reactivo con amina para inmovilizar la clorhexidina en la superficie mediante *crosslinking*. Allí mismo se establece que el crosslinking tiene lugar mediante la formación de enamina como resultado de una reacción entre la amina secundaria y el glutaraldehído.

BREVE DESCRIPCIÓN DEL INVENTO

En un primer aspecto, la presente invención hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante que actúa como agente antimicrobiano y desinfectante de amplio espectro para múltiples aplicaciones en superficies como: celulosa, plástico, metal, cartón, madera; especialmente, en la desinfección de espacios de alto tráfico como hospitales, buses y centros comerciales. En particular, la invención está compuesta por: (a) un agente antimicrobiano, y (b) un agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano.

10

En un segundo aspecto, la presente invención hace referencia a un proceso para obtener la composición antimicrobiana y desinfectante que comprende: un proceso para obtener la composición antimicrobiana de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende:

15

- a) mezclar una primera fracción del agente antimicrobiano con una primera fracción del compuesto alquilo-silano;
- b) adicionar a la mezcla de la etapa a) el compuesto entrecruzante;
- c) adicionar a la mezcla de la etapa b) la fracción restante del compuesto alquilo-silano;

20

- d) adicionar a la mezcla de la etapa c) la fracción restante del agente antimicrobiano.

En un tercer aspecto, la presente invención hace referencia al uso de la composición antimicrobiana y desinfectante. En particular, esta invención está relacionada con las medidas de prevención enfocadas en reducir la introducción y propagación de organismos patógenos (virus y bacterias), especialmente, dentro de los espacios y superficies de alto tráfico humano.

25

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIG. 1: En esta figura se representa esquemáticamente cómo sucede la unión química entre el agente antimicrobiano, el agente de anclaje y la superficie de aplicación.

5

FIG. 2: En esta figura se observan los resultados de la eficiencia de la composición antimicrobiana y desinfectante en el Experimento 1. En el eje Y se observa la concentración del fago en UFP/ mL (expresada en logaritmo) y en el eje X el tiempo de evaluación.

10 **FIG. 3:** En esta figura se observan los resultados de la eficiencia de la composición antimicrobiana y desinfectante en el Experimento 2. En el eje Y se observa la concentración del fago en UFP/ mL (expresada en logaritmo) y en el eje X el tiempo de evaluación.

15 **FIG. 4:** En esta figura se observan los resultados de la actividad virucida mediante la determinación de la concentración del fago, comparando entre centrifugado y sin centrifugar.

FIG. 5: En esta figura se muestran los resultados de la prueba de adhesión a superficies. E representa la adición de enzima únicamente, E+G representa la enzima más el agente de anclaje (*cross-linker* y *linker*) y Full representa el agente antimicrobiano, el agente de anclaje (*cross-linker* y *linker*) y la enzima. La prueba fue realizada sobre varias superficies como se explica en las Figuras siguientes.

FIG 5A: Resultados en superficie de tela de tapabocas (cara exterior).

25 **FIG 5B:** Resultados en superficie de tela de bata desechable anti-fluidos.

FIG 5C: Resultados en superficie de acero inoxidable.

FIG 5D: Resultados en superficie de poliestireno.

30

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El presente invento describe una solución con propiedades desinfectantes capaz de mitigar el crecimiento de microorganismos patógenos como los son los virus y bacterias sobre las superficies de alto tráfico en espacios como el transporte público, hospitales, centros comerciales e instituciones educativas. La composición antimicrobiana y desinfectante sujeta de la presente invención es una solución nanoestructurada que puede adherirse eficazmente a un amplio espectro de superficies entre ellas, vidrio, celulosa, plástico, metal, cartón y madera prolongando, de este modo, su actividad antimicrobiana en el tiempo después de que el producto fuera aplicado sobre la superficie.

Así, una primera modalidad de la invención se refiere a una composición antimicrobiana, que comprende:

- a) un agente antimicrobiano, seleccionado del grupo que consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, un líquido iónico, una isotiazolinona, un hidroxidifenil éter halogenado, o combinaciones de los mismos;
- b) un agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano.

Agente antimicrobiano

En la presente invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, un líquido iónico, una isotiazolinona, un hidroxidifenil éter halogenado, o combinaciones de los mismos. Para efectos de la presente invención el término “*Agente antimicrobiano*” hace referencia al componente de la composición antimicrobiana y desinfectante que tiene efecto germicida activo contra organismos gram-positivos y gram-negativos, anaerobios facultativos y aerobios, y que además, pueden también ser empleados como un recubrimiento protector *anti-biofilm*. Así mismo, este agente antimicrobiano también tiene efecto virucida, bactericida y fungicida de amplio espectro.

En particular, la biguanida y el amonio cuaternario (o sales de amonio cuaternario), son los componentes del agente antimicrobiano que le brindan carga positiva a la composición antimicrobiana, indispensable para la eliminación de los patógenos, ya que esta reacciona con la superficie microbiana que se encuentra cargada negativamente, destruyendo así la integridad de la membrana celular, penetrando la célula y conduciendo a la muerte del microorganismo. Así mismo, el líquido iónico, la isotiazolinona, y el hidroxidifenil éter halogenado son los componentes del agente antimicrobiano que le confieren propiedades de desinfección ante agentes patógenos.

En una modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos una biguanida, un líquido iónico, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste al menos una biguanida, un isotiazolinona, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en una biguanida, un hidroxidifenil éter halogenado, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos una biguanida. En una modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una biguanida, un líquido iónico, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una biguanida, una isotiazolinona, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una biguanida, un hidroxidifenil éter halogenado, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos una biguanida.

En una modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos un amonio cuaternario, un líquido iónico y combinaciones de los mismos.

En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos un amonio cuaternario, una isotiazolinona, y combinaciones de los

mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos un amonio cuaternario, un hidroxidifenil éter halogenado, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos un amonio cuaternario.

5

En una modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos un líquido iónico, una isotiazolinona y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos un líquido iónico, un hidroxidifenil éter halogenado, y combinaciones de los
10 mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos un líquido iónico. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una isotiazolinona, un hidroxidifenil éter halogenado, y combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano consiste en al menos una isotiazolinona. En otra modalidad de la invención, el agente
15 antimicrobiano consiste en al menos un hidroxidifenil éter halogenado.

En otra modalidad de la invención, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, o combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, la biguanida se selecciona entre gluconato de clorhexidina,
20 clorhidrato de clorhexidina, clorhexidina, Butformina, Metformina, Proguanil o combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el amonio cuaternario se selecciona del grupo que consiste en cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, cetrimida, bromuro de benzalconio, triclorobenceno fenoxifenil éter, cloruro de didecil dimetil amonio, cloruro de alquildimetilbencilamonio o combinaciones de los mismos. En una
25 modalidad de la invención, el líquido iónico se selecciona del grupo que consiste en tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio (BMIM-BF₄), el cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]Cl) y el hexafluorofosfato 1-butil-3-metilimidazolio (BMIMPF₆), o combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, la isotiazolinona se selecciona del grupo que consiste en Metil Isotiazolinona (MIT) benzoisotiazolinona,
30 clorometil isotiazolinona (CMIT), o combinaciones de los mismos. En una modalidad de la invención, el hidroxidifenil éter halogenado es triclosán.

En una modalidad de la invención, el agente antimicrobiano de la presente invención se encuentra entre 0,1% y 10% p/p. En otra modalidad de la invención, este agente antimicrobiano se encuentra en una concentración máxima del 5%. En una modalidad de la invención, este agente antimicrobiano se encuentra entre 0.01 – 99 partes en peso por 100 partes de composición antimicrobiana. En una modalidad de la invención, este agente antimicrobiano se encuentra entre 0.01 – 99 partes en peso por 100 partes de composición antimicrobiana.

En otra modalidad de la invención, el amonio cuaternario se encuentra entre 0.01-100 partes en peso por 0.01-100 partes en peso de biguanida. En una modalidad de la invención, el amonio cuaternario se encuentra entre 0.1-70 partes en peso por 0.1-70 partes en peso de biguanida. En otra modalidad de la invención, el amonio cuaternario se encuentra entre 1-34 partes en peso por 1-8 partes en peso de biguanida. En otra modalidad de la invención, el amonio cuaternario se encuentra entre 17-34 partes en peso por 1-8 partes en peso de biguanida. En otra modalidad de la invención, el amonio cuaternario se encuentra entre 1-5 partes en peso por 1-5 partes en peso de biguanida. En una modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende (a) entre 0.01 – 70 partes en peso del agente antimicrobiano.

En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende (a) entre 0.01 – 70 partes, en peso de al menos una biguanida y (b) entre 0.01 – 5 partes, en peso de al menos un amonio cuaternario. En una modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que, por cada 100 partes de su peso, comprende (a) entre 0.01 – 70 partes en peso del agente antimicrobiano. En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que, por cada 100 partes de su peso, comprende (a) entre 0.01 – 70 partes, en peso de al menos una biguanida y (b) entre 0.01 – 5 partes, en peso de un amonio cuaternario.

A menos que se indique lo contrario, a partir del contexto habitual en la técnica, todas las partes y porcentajes del presente Capítulo Descriptivo están basados en peso.

Agente de anclaje

Para efectos de la presente invención el término “*Agente de anclaje*” hace referencia al componente de la composición antimicrobiana y desinfectante que tiene el efecto de ampliar el tiempo de contacto del agente antimicrobiano con la superficie de aplicación. Este agente de anclaje consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano. Dicho agente de anclaje es el componente de la composición que permite el anclaje químico o la adherencia sostenida en el tiempo del agente antimicrobiano a las superficies ya que forma un puente entre el agente antimicrobiano y la superficie de contacto configurando un andamio, un *molecular scaffold*, una red o andamio tridimensional nanométrico como se aprecia en la Figura 1 (FIG. 1). Este andamio formado entre el agente antimicrobiano y el agente de anclaje aumenta el tiempo de fijación o de adherencia a la superficie de aplicación del agente antimicrobiano, es decir hace que las moléculas con actividad antimicrobiana y desinfectante queden ancladas, fijadas o inmovilizadas en la superficie de aplicación por al menos 24 horas después de la aplicación creando una capa o barrera protectora. Este tiempo también se conoce como tiempo de anclaje. En una segunda modalidad de la invención el tiempo de anclaje es de hasta 48 horas. En una tercera modalidad de la invención, el tiempo de anclaje es de hasta 72 horas. En una cuarta modalidad de la invención, el tiempo de anclaje es de hasta 96 horas. En una quinta modalidad de la invención, el tiempo de anclaje es de hasta 120 horas.

La formación de la red o andamio molecular se promueve mediante una funcionalización superficial por medio de la unión de los grupos funcionales del compuesto entrecruzante (aldehídos, carboxilos, -OH, -SH, carbonilos, amino, entre otros) y los grupos funcionales reactivos de los compuestos alquilo-silano, así como un espaciamiento molecular generado por la estructura de los grupos silanos, en asociación con el agente antimicrobiano. En particular, el compuesto entrecruzante funciona como *cross-linker* o entrelazante y el compuesto alquilo-silano funciona como *linker* o enlazador. Es decir, el compuesto entrecruzante es el compuesto que se une al agente antimicrobiano por un extremo, y por el otro se une al compuesto enlazador o *linker* que es el compuesto que se une en el extremo final a la superficie de aplicación.

Esto es, el compuesto entrecruzante se emplea como puente de unión entre el agente antimicrobiano y el compuesto alquilo-silano o *linker* el cual promueve el anclaje químico a las superficies, así:

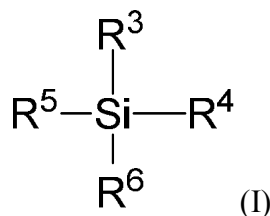


En una modalidad de la invención, el compuesto alquilo-silano presenta mejor desempeño en un pH básico.

- 10 En la presente invención, el agente de anclaje que consiste en un compuesto entrecruzante y, un compuesto alquilo-silano. En una modalidad de la invención, el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo que consiste en $(R^1)_X$ -alquilC₁₋₆-(R²)_Z, $(R^1)_X$ -cicloalquilC₃₋₁₀-(R²)_Z, $(R^1)_X$ -arilC₆₋₁₀-(R²)_Z, o combinaciones de los mismos; en donde R¹ y R² representan independientemente -CHO, -COOH, -CO, -OH, -SH, amino; y en donde x y z representan
15 independientemente un número entero mayor o igual a 1.

- En una modalidad de la invención, el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo que consiste en $(R^1)_1$ -alquilC₁₋₆-(R²)₁, $(R^1)_1$ -cicloalquilC₃₋₁₀-(R²)₁, $(R^1)_1$ -arilC₆₋₁₀-(R²)₁, o combinaciones de los mismos; en donde R¹ y R² representan independientemente -CHO, -
20 COOH, -CO, -OH, -SH, amino. En otra modalidad de la invención, el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo que consiste en $(R^1)_1$ -alquilC₁₋₆-(R²)₁, $(R^1)_1$ -cicloalquilC₃₋₁₀-(R²)₁, $(R^1)_1$ -arilC₆₋₁₀-(R²)₁, o combinaciones de los mismos; en donde R¹ y R² representan independientemente -CHO. En otra modalidad de la invención, el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo que consiste en $(R^1)_1$ -alquilC₃-(R²)₁, $(R^1)_1$ -cicloalquilC₆-(R²)₁, $(R^1)_1$ -
25 arilC₆-(R²)₁, o combinaciones de los mismos; en donde R¹ y R² representan independientemente -CHO. En otra modalidad de la invención, tanto R¹ como R² se unen al alquiloC₁₋₆ por los extremos de la cadena, por un extremo y un carbono intermedio, o por los carbonos intermedios solamente. En una modalidad de la invención, el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo compuesto por glutaraldehído, aldehído ftálico, aldehído isoftálico, aldehído terftálico, o
30 combinaciones de los mismos.

A su vez, el compuesto alquilo-silano tiene la fórmula (I),



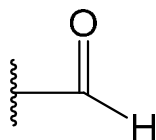
en donde R^3 , R^4 , R^5 y R^6 representan independientemente alquil C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} , opcionalmente sustituidos por al menos un: amino, alquilo C_{1-6} , alquil C_{1-6} -amino, alquil C_{1-6} -diamino, alquil C_{1-6} -carboxilo, halo, carboxi, -SH, cicloalcoxi C_{3-10} , alcoxi C_{1-6} , o combinaciones de los mismos. En otra modalidad de la invención, el compuesto alquilo-silano se selecciona del grupo compuesto por (3-aminopropil)-triethoxisilano (APTES), (3-aminopropil)-trimethoxisilano (APTMS), (3-cloropropil)triethoxisilano, (3-cloropropil)(dimetoxi)metilsilano, tetramethoxisilano, tetraethoxisilano, 3-(2-aminoetilamino)propil-dimetoximetilsilano, 3-metacriloxipropiltrimethoxisilano, 3-mercaptopropiltriethoxisilano, N-[3-(trimethoxisilil)propil]etilendiamina, 3-Glicidoxipropiltrimethoxisilano, N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimethoxisilano, o combinaciones de los mismos.

En una modalidad de la invención, el agente de anclaje se selecciona del grupo que consiste en glutaraldehído y APTES.

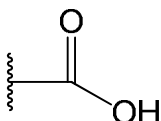
Para efectos de la presente invención, la expresión “alquil C_{1-6} ” representa un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono y, por ejemplo, puede ser metilo, etilo, n- o iso- propilo, n-, iso-, sec- o terc- butilo. La expresión “cicloalquil C_{3-10} ” representa un grupo mono-, bi- o tricíclico saturado o parcialmente saturado que tiene de tres a diez átomos de carbono y, por ejemplo, puede ser ciclopropilo, ciclopropenilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclobutenilo. La expresión “aril C_{6-10} ” representa un grupo mono-, bi- o tricíclico con al menos un carbociclo aromático, con seis a diez átomos de carbono en su estructura. En una modalidad de la invención, el grupo aril C_{6-10} representa un grupo monocíclico con seis átomos de carbono (fenilo) o un grupo bicíclico con nueve o diez átomos de carbono (dos anillos de seis miembros o un anillo de seis miembros con un anillo de cinco miembros), en donde el segundo anillo también puede ser aromático o, sin embargo, pueden ser saturados o parcialmente saturados.

Así mismo, la expresión -CHO representa el grupo funcional aldehído unido a un grupo alquilo, cicloalquilo o arilo, ya sea por un extremo de la cadena alquilo, o por un carbono intermedio de la cadena alquilo, así:

5



La expresión -COOH representa el grupo funcional carboxilo, unido a un grupo alquilo, cicloalquilo o arilo, ya sea por un extremo de la cadena alquilo, o por un carbono intermedio de la cadena alquilo, así:



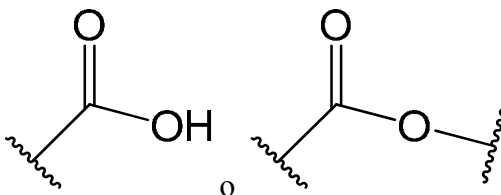
- 10 La expresión -CO representa el grupo funcional carbonilo, unido a un grupo alquilo, cicloalquilo o arilo, ya sea por un extremo de la cadena alquilo, o por un carbono intermedio de la cadena alquilo, así:



- 15 La expresión -OH representa el grupo funcional alcohol. La expresión -SH representa el grupo funcional tiol o mercapto y la expresión “amino” se refiere al grupo funcional -NH- o -NH₂ representa el grupo amino disustituido y monosustituido, respectivamente.

- 20 La expresión “*alcoxiC₁₋₆*” representa un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono unido a un átomo de oxígeno mediante enlace covalente (C-O). La expresión “*silano*” hace referencia al átomo de silicio sustituido en sus cuatro valencias por alquiloC₁₋₆ o alcoxiC₁₋₆. La expresión “*alquilC₁₋₆amino*” representa un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono unido a un grupo amino. La expresión “*alquilC₁₋₆diamino*” representa un grupo alquilo de cadena
- 25 lineal o cadena ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono unido a dos grupos amino. La expresión “*alquilC₁₋₆-carboxilo*” representa un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono unido a un grupo carboxilo. La expresión

“halo” representa un átomo halógeno por ejemplo cloro, bromo, yodo, flúor. La expresión “carboxi” representa un grupo carboxilo el cual puede estar unido a la cadena carbonada únicamente por el carbono del grupo carbonilo (-C=O) y también mediante el oxígeno del grupo -OH , así:



La expresión “cicloalcoxi C_{3-10} ” representa un grupo mono-, bi- o tricíclico saturado o parcialmente saturado que tiene de tres a diez átomos de carbono y dentro de su estructura cíclica contiene un átomo de oxígeno.

En una modalidad de la invención, el agente de anclaje de la presente invención se encuentra entre 0,01% y 5% p/p. En una modalidad de la invención, se prefiere una concentración máxima de 1% p/p de dicho agente de anclaje. En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende entre 0.01 – 10 partes en peso de agente de anclaje. En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende entre 0.01 – 10 partes en peso de agente de anclaje por cada 100 partes de composición. En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende entre 0.01 – 2 partes en peso de agente de anclaje. En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende entre 0.01 – 2 partes en peso de agente de anclaje por cada 100 partes de composición antimicrobiana y desinfectante. En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que, por cada 100 partes de su peso, comprende entre 0.01 – 1,5 partes en peso de agente de anclaje. En una modalidad de la invención el compuesto entrecruzante se encuentra entre 0,001 – 10 partes en peso por 0,001 – 10 partes en peso de compuesto alquilo-silano. En una modalidad de la invención el compuesto entrecruzante se encuentra entre 0,001 – 10 partes en peso por 0,001 – 10 partes en peso de compuesto alquilo-silano por cada 100 partes de composición antimicrobiana. En una modalidad particular de la invención, el compuesto

entrecruzante se encuentra entre 1 – 8 partes en peso por 1 – 8 partes en peso de compuesto alquilo-silano por cada 100 partes de composición antimicrobiana. En una modalidad preferida de la invención el agente de anclaje se encuentra en una proporción 1:1 en peso de compuesto entrecruzante:compuesto alquilo-silano.

5

A menos que se indique lo contrario, de forma implícita a partir del contexto o habitual en la técnica, todas las partes y porcentajes del presente Capítulo Descriptivo están basados en peso.

Composición antimicrobiana y desinfectante

10

Así, una primera modalidad de la invención se refiere a una composición antimicrobiana, que comprende:

- 15 a) un agente antimicrobiano, seleccionado del grupo que consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, un líquido iónico, una isotiazolinona, un hidroxí-difenil éter halogenado, o combinaciones de los mismos;
- b) un agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano.

En una modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende (a) entre 0.01 – 70 partes en peso de agente antimicrobiano, (b) entre 0.01 – 1,5 partes en peso de agente de anclaje, conformado por un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano. En una modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que comprende (a) entre 0.01 – 70 partes en peso de al menos una biguanida y (b) entre 0.01 – 5 partes en peso de un amonio cuaternario, (c) entre 0.01 – 1,5 partes en peso de agente de anclaje, conformado por un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano. En una modalidad de la invención la composición antimicrobiana comprende una relación de 53-106 partes en peso de agente antimicrobiano y 1-8 partes en peso de agente de anclaje.

30

En otra modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que, por cada 100 partes de su peso, comprende (a) entre 0.01 – 70 partes en peso de agente antimicrobiano, (b) entre 0.01 – 1,5 partes en peso de agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano. En una modalidad de la invención, se hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante, que, por cada 100 partes de su peso, comprende (a) entre 0.01 – 70 partes en peso de al menos una biguanida y (b) entre 0.01 – 5 partes en peso de un amonio cuaternario, (c) entre 0.01 – 1,5 partes en peso de agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano, y (d) entre 20 – 50 partes, en peso de agua.

10

En otra modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 0.1 a 70% p/p de una biguanida, de 0.1 a 6.0% p/p de un amonio cuaternario, 0.01 a 5% del agente de anclaje. En otra modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 0.1 a 70% p/p de una biguanida, de 0.1 a 6.0% p/p de un amonio cuaternario, 0.01 a 5% del agente de anclaje, y de 10 a 80% p/p de agua. En una modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 0.5 a 3% p/p de una biguanida, de 0.5 a 2.5% p/p de un amonio cuaternario, 0.01 a 2% del agente de anclaje, y de 70 a 90% p/p de agua. En otra modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 1 a 2.5% p/p de una biguanida, de 1 a 2% p/p de un amonio cuaternario, 0.05 a 1% del agente de anclaje, y de 70 a 90% p/p de agua.

20

En otra modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 0.5 a 2% p/p de gluconato de clorhexidina, de 0.5 a 2.5% p/p de cloruro de alquildimetilbencilamonio, 0.5% de APTES, 0.5% de glutaraldehído, y de 70 a 90% p/p de agua. En otra modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 1.5 a 2% p/p de gluconato de clorhexidina, de 1 a 2% p/p de cloruro de alquildimetilbencilamonio, 0.5% de APTES, 0.5% de glutaraldehído, y de 70 a 90% p/p de agua. En otra modalidad de la invención, la composición antimicrobiana comprende de 1.5 a 2% p/p de gluconato de clorhexidina, de 1 a 2% p/p de cloruro de alquildimetilbencilamonio, 0.05% de APTES, 0.05% de glutaraldehído, y de 70 a 90% p/p de agua.

30

Efecto antimicrobiano generado por la alta fijación a superficie

Se ha encontrado que la composición de la invención proporciona un efecto de concentración mínima inhibitoria (inhibición bacteriana) con diluciones hasta 10^{-3} (mil veces diluida) de una
5 composición con 5% de agente antimicrobiano, y efectos virucidas con diluciones hasta 10^{-2} (100 veces diluida). Así mismo se ha observado que la composición tiene múltiples aplicaciones en superficies tanto vivas como no vivas, por ejemplo: dermis, celulosa, plástico, metal, cartón, madera entre otras.

10

Proceso de preparación de las composiciones antimicrobianas y desinfectantes

En una modalidad de la invención, se describe un proceso para obtener la composición antimicrobiana de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende:

15

- a) mezclar una primera fracción del agente antimicrobiano con una primera fracción del compuesto alquilo-silano;
- b) adicionar a la mezcla de la etapa a) el compuesto entrecruzante;
- c) adicionar a la mezcla de la etapa b) la fracción restante del compuesto alquilo-
20 silano;
- d) adicionar a la mezcla de la etapa c) la fracción restante del agente antimicrobiano.

En una segunda modalidad de la invención, se hace referencia a un proceso para obtener la
25 composición antimicrobiana y desinfectante que comprende:

- a) mezclar una primera fracción de un agente antimicrobiano con una primera fracción del compuesto alquilo-silano, a agitación constante de 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35 °C;
- 30 b) adicionar a la mezcla de la etapa a) el compuesto entrecruzante;

c) adicionar a la mezcla de la etapa b) la fracción restante del compuesto alquilo-silano y mezclar en agitación constante de 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35 °C;

d) someter la mezcla de la etapa c) a agitación constante durante 30 a 50 minutos;

5 e) adicionar a la mezcla de la etapa d) la fracción restante del agente antimicrobiano en agitación constante por 10-40 min a 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35°C.

10 EJEMPLOS

Ejemplo 1: Preparación de la composición antimicrobiana

Para la síntesis de 74 g de la composición antimicrobiana y desinfectante, inicialmente se
15 prepararon 0.5 g de una solución de glutaraldehído al 1% y 0.5 g de una solución de APTES al 5%. En un recipiente se tomaron 50 g de solución de gluconato de clorhexidina al 20% y 0,15 g de la solución de APTES 5% en agitación constante de 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35 °C. Posteriormente, a esta solución se agregó el glutaraldehído 1% y lo restante de la solución de APTES 5% en simultaneo y lentamente (aproximadamente 10
20 minutos), todo en agitación constante de 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35 °C. Una vez agregados los compuestos se dejó la mezcla en agitación constante durante 30 a 50 minutos. En otro recipiente, se prepararon 3g de una solución de cloruro de benzalconio en agua del 13% al 20%. Esta solución se agregó a la mezcla anterior en agitación constante por 10-40 min a 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35°C.

25

Siguiendo el mismo procedimiento, se prepararon las siguientes composiciones:

	Composición Ejemplificada			
Componente	A		B	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	2	gluconato de clorhexidina	1.5
	cloruro de benzalconio	1.5	cloruro de benzalconio	2
Agente de anclaje	Glutaraldehído	0.5	Glutaraldehído	0.5
	APTES	0.5	APTES	0.5

	Composición Ejemplificada			
Componente	C		D	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	2	gluconato de clorhexidina	5
	cloruro de bencetonio	2.5	Triclorobenceno fenoxifenil éter	1.5
Agente de anclaje	Aldehído isoftálico	0.5	Glutaraldehído	0.5
	(3-aminopropil)-trimetoxisilano (APTMS)	0.5	(3-aminopropil)-trimetoxisilano (APTMS)	0.7

	Composición Ejemplificada			
Componente	E		F	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	0.5	gluconato de clorhexidina	15
	cloruro de benzalconio	10	cloruro de benzalconio	5
Agente de anclaje	Glutaraldehído	1	Glutaraldehído	2
	APTES	2	APTES	1

	Composición Ejemplificada			
Componente	G		H	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	60	gluconato de clorhexidina	40
	cloruro de benzalconio	50	cloruro de benzalconio	70
Agente de anclaje	Glutaraldehído	5	Glutaraldehído	0.005
	APTES	5	APTES	0.005

	Composición Ejemplificada			
Componente	I		J	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	0.005	gluconato de clorhexidina	1
	cloruro de benzalconio	0.005	cloruro de benzalconio	1
Agente de anclaje	Glutaraldehído	6	Glutaraldehído	1
	APTES	4	APTES	1

	Composición Ejemplificada			
Componente	K		L	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	1	gluconato de clorhexidina	8
	cloruro de benzalconio	34	cloruro de benzalconio	1
Agente de anclaje	Glutaraldehído	0.05	Glutaraldehído	1
	APTES	0.05	APTES	0.5

	Composición Ejemplificada			
Componente	M		N	
	Ingrediente	partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	0.01	gluconato de clorhexidina	70
	cloruro de benzalconio	5	cloruro de benzalconio	0.01
Agente de anclaje	Glutaraldehído	0.5	Glutaraldehído	1
	APTES	0.5	APTES	1

	Composición Ejemplificada			
Componente	O		P	
	Ingrediente	%p/p	Ingrediente	%p/p
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	50	gluconato de clorhexidina	70
	cloruro de benzalconio	3	cloruro de benzalconio	4.5
Agente de anclaje	Glutaraldehído	0.5	Glutaraldehído	0.45
	APTES	0.5	APTES	0.45
Vehículo	Agua	46	Agua	24.6

Ejemplo 2: Métodos de aplicación de la composición antimicrobiana y desinfectante

Aplicación por aspersión

- 5 Para poder efectuar la aplicación por aspersión de la composición antimicrobiana y desinfectante se requiere realizar una dilución de la composición antimicrobiana y desinfectante al 1% en agua. Un ejemplo de esto es diluir 10 g de la composición antimicrobiana y desinfectante después de su fabricación, en 990 g de agua para asperjar 1000 g del compuesto desinfectante. Esta dilución final es la que puede ser aplicada por aspersión.

10

Aplicación por cámara de humo

- Para poder efectuar la aplicación por cámara de humo de la composición antimicrobiana y desinfectante se requiere realizar una dilución del producto sintetizado al 5% en un solvente orgánico como glicerina, trietilenglicol, 1,2 propilenglicol y combinaciones de los mismos. Un ejemplo de esto es diluir 50g de la composición antimicrobiana y desinfectante después de su fabricación, en 950 g de glicerina para aplicar 1000g del compuesto. En este ensayo se implementó un equipo como las siguientes características:

	Características
Nombre del equipo	Prody lighting
Modelo	F900
Potencia	900 W
Salida de humo	10000 ft ³ / min
Capacidad del tanque	1 L
Alimentación	110 V
Solvente	Glicerina

20

Parámetros Fisicoquímicos

- Según la invención, la composición antimicrobiana y desinfectante posee una gravedad específica de aproximadamente 0,98 – 1.2. En su composición inicial concentrada tiene un pH que se encuentra en el rango de 6,5 – 7,5 y puede tener color blanco o incoloro.

Ejemplo 3: Evaluación de la actividad antibacterial y de adhesión a superficies de la composición antimicrobiana y desinfectante

- Se cuantificó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de la composición antimicrobiana y desinfectante en cepas de *Eschericia coli*, *Staphilococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella sp.* Se encontró que la composición antimicrobiana y desinfectante es efectiva incluso cuando se encuentra diluido 1.000 veces (dilución 10^{-3}). Por otra parte, las variantes en las que se modificó el óxido de amina resultaron ser menos efectivos que la composición antimicrobiana y desinfectante original, es decir, sin dilución. Adicionalmente se evaluó la capacidad de adhesión del compuesto a superficies plásticas, metálicas y textiles haciendo uso del agente de anclaje (*cross-linker* y *linker*) para fijar una enzima y la posterior adición de un sustrato cromogénico (FIG. 5). Esto permitió comprobar que la composición antimicrobiana y desinfectante se adhiere efectivamente a las superficies y se mantiene después de los lavados con agua.

Metodología

- Todas las cepas bacterianas utilizadas para las pruebas fueron cultivadas en caldo Luria-Betani (LB) a 37°C. Los medios y equipos utilizados fueron esterilizados en una autoclave a 121 °C durante 30 minutos, a excepción del buffer, el cual fue filtrado a través de un microfiltro de 0,2 µm en condiciones estériles. Una solución de penicilina fue utilizada como control positivo en todos para todas las cepas.

- *Preparación de los tratamientos*

Los tratamientos fueron preparados al mezclar los componentes relacionados en la Tabla 1, tales componentes son la solución madre, correspondiente a la Composición ejemplificada A (gluconato de clorhexidina, APTES, glutaraldehído y cloruro de benzalconio mezclados y diluidos al 5% p/p), cloruro de amonio (cloruro de benzalconio), óxidos de amina y gluconato de clorhexidina a diferentes concentraciones para producir soluciones iniciales, de las cuales fueron posteriormente diluidas 500 mg en 9,5 g de la solución marcada como “vehículo”. Esta nueva solución, ya diluida en el vehículo, se denominó *stock* para cada uno de los tratamientos.

Los tratamientos fueron posteriormente diluidos de nuevo para generar 10 concentraciones distintas. Se tomó la solución madre en cada una de las pruebas a diferentes concentraciones, pero manteniendo el volumen total de la muestra, lo que significa que para cada una de las concentraciones se utilizó cierta cantidad de solución y cierta cantidad de vehículo que al estar mezclados generaba el mismo volumen en cada una de las muestras.

- *Concentración mínima inhibitoria MIC*

Se preparó un inóculo bacteriano, para lo cual 1 mL de una suspensión bacteriana con $OD_{620}=0,2$ fue centrifugado a 1800 rpm durante 5 min a 4°C. Posteriormente, se retiró el sobrenadante y el pellet se lavó con 1 mL de buffer HEPES (pH = 7,01) 2 veces. Luego se resuspendió en 1 mL de buffer y se realizó una dilución de 1:1000 para obtener una concentración de aproximadamente 5 ufc/ mL.

En un pozo de microplaca se sirvieron 50 μ L de la dilución correspondiente de un tratamiento, posteriormente se adicionaron 50 μ L de la suspensión bacteriana y se dejó incubar a 37°C por 4 horas. Fueron sembradas 9 diluciones de cada uno de los tratamientos por triplicado. A continuación, se adicionaron 100 μ L de caldo LB y se incubaron por 24 horas. Pasado este tiempo, la placa se midió la DO_{620} en un espectrofotómetro. Se reporta como MIC la concentración mínima a la cual se evidencia la inhibición del crecimiento bacteriano. Como control positivo se utilizó penicilina y como control negativo buffer HEPES pH=7,01.

Tabla 1: Composición porcentual (p/p) de los tratamientos aplicados

Tratamiento	Solución Madre	Amonio cuaternario	Oxido de amina	Gluconato de clorhexidina
A	100%	0%	0%	0%
B	0%	20%	0%	80%
C	0%	0%	20%	80%

- *Permanencia en superficie*

- 5 Para esta prueba se asperjó el tratamiento A con un atomizador sobre la superficie a evaluar, posteriormente se adicionaron 100 μ l de una solución de glutaraldehído (*cross-linker*) al 2,5% en buffer (pH = 4,0) y se dejó reaccionar durante 15 minutos. El exceso de líquido se retiró con una micropipeta y se lavó con agua tipo II durante 20 segundos. En seguida se adicionaron 100 μ l de laccasa y se dejó reaccionar durante 15 minutos. Se retiró el exceso de líquido con una
- 10 micropipeta y se lavó durante 20 segundos con agua tipo II. Finalmente se adicionaron 100 μ l de ABTS (1 mg/ mL) disuelto en buffer (pH = 4,0) y se dejó reaccionar durante 15 minutos.

- *Análisis estadístico*

- 15 Los estadísticos de prueba F (para comprobar homocedasticidad) y t (para comparar sets de datos) fueron calculados como se sugiere en la literatura conocida por cualquier persona medianamente versada en la materia. Se consideró inhibición del crecimiento a todo OD cuyo intervalo de confianza (95%, n=3) contenga al valor de OD correspondiente al control positivo. Se consideró como afectación al crecimiento a los OD que fuesen significativamente diferentes
- 20 del control negativo.

Resultados y discusión

- *MIC*

- 5 Los valores obtenidos para MIC se encuentran registrados en la Tabla 2. Para determinar este valor se calculó un OD₆₂₀ con un intervalo de confianza del 95% y se evaluó si el valor de OD correspondiente al control positivo estaba contenido en dicho intervalo. Se considera que la concentración corresponde con el MIC si el OD₆₂₀ del control positivo está contenido en el dicha concentración, pero no en el intervalo de confianza de la dilución siguiente.

10

Tabla 2: Concentración mínima inhibitoria (MIC) expresada como 1/2ⁿ, donde n es el número registrado en la tabla

	<i>E. Coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salmonella spp.</i>
A	8	8	9	9
B	7	8	8	8
C*	5	5	-	-

* No fue posible diferenciar turbidez por crecimiento bacteriano de turbidez del producto en dos de las cepas bacterianas

15

- Estos resultados sugieren que cambiar el tensoactivo del tratamiento A y B por el óxido de amina reduce la efectividad de la composición antimicrobiana y desinfectante, pues la concentración que se requiere para inhibir el crecimiento de *E. coli* y *P. aeruginosa* es de 1/25, es decir que se necesita una concentración 8 veces mayor del tratamiento D para obtener los
- 20 mismos resultados que con el tratamiento A. Adicionalmente, ninguna de las concentraciones del tratamiento C probadas arrojó un OD de *S. aureus* ni *Salmonella spp* significativamente igual al control positivo, por lo que no se puede determinar una MIC. Lo que indica que este compuesto puede tener interacciones antagonistas contra el agente antimicrobiano. Es importante resaltar que, debido a que la inhibición del crecimiento bacteriano se determinó a
- 25 partir de la DO de la muestra y las sustancias utilizadas tenían altas DO, hay casos en los que no es posible diferenciar si la turbulencia detectada por el espectrofotómetro se debe al

crecimiento bacteriano o a la opacidad del producto evaluado. En estos casos se reporta como si hubiese crecimiento bacteriano.

- *Adhesión a superficies*

5

Tras la realización de la prueba se encontró que, para todos los casos, la enzima se ancló a la zona donde se había tratado con el desinfectante (tratamiento B) y produjo un cambio de coloración apreciable, lo que prueba que esta se hallaba presente. En algunos casos, particularmente en los textiles, el agente de anclaje (*cross-linker* y *linker*) penetró el material y
10 logró fijar la enzima, por lo que se pudo apreciar un cambio en la coloración del ABTS. Sin embargo, la intensidad de dicho cambio fue mucho mayor y también más rápido cuando el material se había tratado previamente con desinfectante como se aprecia en la Figura 5 (FIG. 5, FIG. 5A, FIG. 5B, FIG. 5C, FIG. 5D).

15 Resultados finales

Los tratamientos A y B no mostraron ser significativamente diferentes, sin embargo, el cambio del compuesto nitrogenado no fue positivo. Se demostró que la composición antimicrobiana y desinfectante (A y B) mantiene una actividad adecuada incluso a una dilución de 10^{-3} . También
20 fue posible comprobar que la composición antimicrobiana y desinfectante efectivamente se adhiere a diferentes tipos de superficie.

Ejemplo 4: Evaluación de capacidad de inactivación usando un bacteriófago – Actividad virucida

25

En este ejemplo se determinó la capacidad antiviral de la composición antimicrobiana y desinfectante en el cual se emplearon bacteriófagos como modelo de virus. Para esto, se emplearon diferentes concentraciones de la composición antimicrobiana y desinfectante de la invención, y en donde se evaluó la actividad en el tiempo contra un fago de *Escherichia coli*.

30

Metodología

- *Microorganismos*

Para las pruebas se empleó el bacteriófago 6.1 activo contra *Escherichia coli* y su cepa
 5 hospedera *Escherichia coli* 6. Tanto la bacteria como el fago se encuentran conservados a -
 80°C.

- *Diseño del experimento para la evaluación de la eficiencia de la composición antimicrobiana y desinfectante*

10

Se empleó una suspensión del fago a una concentración de $10e^{10}$ UFP/ mL, y una solución
 madre de la composición antimicrobiana y desinfectante. Se emplearon tres concentraciones de
 la Composición ejemplificada A las cuales corresponden a tres diluciones a partir de la solución
 madre: 1/100, 1/1000 y 1/10000. Las diluciones se realizaron empleando como diluyente el
 15 buffer SM.

20

En tubos de ensayo con 4,5 mL del buffer SM, se agregaron 0,5 mL de la composición
 antimicrobiana y desinfectante hasta obtener la concentración deseada. Para cada concentración
 se realizaron tres réplicas biológicas, en donde a cada una de ellas se le agregó 0,1 mL de la
 suspensión del fago, de tal manera que la concentración final fue de $10e^8$ UFP/ mL. El control
 consistió en 5 mL de buffer SM al cual se le agregó el fago pero sin la composición
 antimicrobiana y desinfectante. Todas las soluciones se mantuvieron a temperatura ambiente
 durante el experimento.

25

Una vez en contacto la suspensión de fagos con las diferentes concentraciones de la
 composición antimicrobiana y desinfectante, se monitoreó el título de los fagos a los 0, 5 y 15
 minutos. Para realizar el recuento se tomó una alícuota de 0.5 mL de la suspensión y se llevó a
 centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos. Los fagos permanecen en el sobrenadante por lo que se
 tomaron 0.1 mL de este para realizar el respectivo recuento de los virus. Este ensayo se
 30 identifica como Experimento 1, el cual fue repetido empleando las concentraciones 1/100,
 1/1000, 1/10000 y 1/1000000, y monitoreando la concentración del fago a 0 y 15 minutos, y a

las 4, 8 y 24 horas luego de haber agregado el fago (En adelante, Experimento 2). La modificación fue realizada para evaluar si se generaba un evento de liberación lenta y controlada de la composición antimicrobiana y desinfectante.

5 • *Cuantificación de los virus*

El título de los fagos se realizó empleando la metodología de spot, la cual consiste en mezclar un medio con menor concentración de agar (agar *soft*), agregar un cultivo activo de la bacteria hospedera del fago, e inmediatamente verter la mezcla sobre cajas de Petri con medio de crecimiento, buscando una distribución uniforme del agar *soft*. Una vez solidificado el agar *soft*,
10 se agregaron sobre la superficie en forma de *spot* 5 µL de las diluciones de cada suspensión de fagos provenientes de la centrifugación. Como medida adicional, se realizó el recuento de una de las réplicas de cada concentración a las 24 horas de contacto entre fagos y la composición antimicrobiana y desinfectante.

15

• *Efecto del diluyente en los fagos y bacteria hospedero*

Con el fin de verificar que la lisis observada en los recuentos fuera consecuencia de la acción del fago y no un efecto residual del sobrenadante de la composición antimicrobiana y desinfectante, se evaluó el efecto del sobrenadante de la composición antimicrobiana y
20 desinfectante en los fagos. Para esto se tomaron 0,5 mL de las diferentes diluciones de la composición antimicrobiana y desinfectante 1/100, 1/1000 y 1/10000, se llevaron a centrifugar por 5 minutos a 13000 rpm y se tomó 0.1 mL del sobrenadante de cada uno y se sembraron 10 µL de este sobrenadante sobre un césped de la bacteria. Se llevó a incubar y a las 24 horas se
25 evaluó la presencia de zonas claras.

Además, se evaluó si el sobrenadante tenía algún efecto en el título de los fagos. Para esto se tomó 1 mL de una dilución 1/100 de la composición antimicrobiana y desinfectante, se llevó a centrifugar y se tomaron 0.5 mL del sobrenadante y se agregaron a 4.5 mL de buffer SM. A
30 esta solución se agregó 0,1 mL de la suspensión de fago a una concentración de $10e^{10}$ UFP/mL. Se evaluó el recuento de fagos a la 0 y a las 24 horas luego de agregar los fagos.

Resultados

Los resultados del Experimento 1 mostraron una reducción de 4 unidades logarítmicas en la concentración de los fagos a las 24 horas con la composición antimicrobiana y desinfectante que presenta mayor concentración (1/100). Las concentraciones a la $1e^{-3}$ y $1e^{-4}$ de la composición antimicrobiana y desinfectante mostraron una reducción de 1.5 unidades logarítmicas a las 24 horas. La menor dilución ($1e^{-4}$) de la composición antimicrobiana y desinfectante tiene una reducción de 1 unidad logarítmica a los 15 minutos. La Figura 2 (FIG. 2) muestra el diagrama del promedio de las réplicas y repeticiones de cada punto medido a los 0, 5, 15 minutos y 24 horas con cada una de las diferentes concentraciones de la composición antimicrobiana y desinfectante ($1e^{-2}$, $1e^{-3}$, $1e^{-4}$). Las concentraciones del tiempo 0 muestran pequeñas variaciones por lo que no parece haber efecto residual de la composición antimicrobiana y desinfectante después de las diluciones para el recuento.

Por su parte, los resultados del Experimento 2 mostraron una reducción de 2.5 unidades logarítmicas en la concentración de los fagos a las 4 horas con la composición antimicrobiana y desinfectante más concentrada ($1e^{-2}$) y una reducción de 3 unidades logarítmicas a las 24 horas con la misma concentración de la composición antimicrobiana y desinfectante. Así, una dilución a la $1e^{-4}$ mostró una reducción de 2.5 unidades logarítmicas a los 15 minutos, pero a las 4 horas la concentración de los fagos es similar a la concentración del control. En la dilución $1e^{-3}$ y $1e^{-5}$ no se observan cambios en la concentración del fago a lo largo del tiempo. En el tiempo 0 las concentraciones del fago en las diferentes concentraciones presentan una alta variabilidad. La Figura 3 (FIG. 3) muestra el diagrama del promedio de las réplicas y repeticiones de cada punto medido a los 15 minutos y 4, 8 y 24 horas con cada una de las diferentes concentraciones de la composición antimicrobiana y desinfectante ($1e^{-2}$, $1e^{-3}$, $1e^{-4}$, $1e^{-5}$). Respecto al efecto del diluyente en los fagos y bacteria hospedera, se observa que los resultados del efecto del diluyente en la bacteria no mostraron un efecto de este en el crecimiento bacteriano. Así mismo, los resultados no mostraron ningún efecto del diluyente en el título de los fagos. Se comparó el título de la solución control del fago con la solución experimento y no se observó ninguna disminución del título cuando fue expuesto al diluyente.

Análisis de resultados

Los resultados del Experimento 1 sugieren que no hay ningún efecto de la composición antimicrobiana y desinfectante hasta los primeros 15 minutos de exposición del virus. Sin embargo, a las 24 horas se ve una reducción en la concentración del fago expuesto a la solución de la composición antimicrobiana y desinfectante más concentrada. Con base en estos resultados, se diseñó el Experimento 2. En este experimento, los resultados muestran una reducción de la concentración de los virus expuestos a la solución más concentrada de la composición antimicrobiana y desinfectante desde las 4 horas de exposición, lo cual es consistente con los resultados del Experimento 1. Sin embargo, los resultados sugieren que puede existir un fenómeno de enmascaramiento de los fagos en la suspensión de la composición antimicrobiana y desinfectante. Por ejemplo, en el Experimento 2, el fago expuesto a la dilución de $1e^{-4}$ de la composición antimicrobiana y desinfectante muestra una caída de la concentración a los 15 minutos, pero una mayor concentración a las 4 horas. En el Experimento 1 se ve esa misma caída de la concentración de los virus expuestos a esa misma concentración a los 15 minutos, pero, por el contrario, a las 24 horas, la concentración disminuye un poco más. Es necesario entonces llamar la atención sobre los datos del Experimento 2 a los 0 minutos, donde se ve una alta variabilidad de la concentración del fago expuesto a las diferentes concentraciones de la composición antimicrobiana y desinfectante por 0 minutos. Así, se esperaría que los valores fueran iguales o muy similares entre sí. Por ello, las opciones que se plantean son a) un efecto residual de la composición antimicrobiana y desinfectante que no es eliminado con la centrifugación y diluciones subsecuentes; b) la posibilidad de que la composición antimicrobiana y desinfectante agregue y enmascare los virus. Por esta razón se realizó un ensayo adicional, en el cual se reemplazó la centrifugación por ultracentrifugación. Así, se realizó un ensayo para evaluar la susceptibilidad del fago 6.1 a la ultracentrifugación. Los resultados mostraron que la concentración del fago disminuye 2 unidades logarítmicas con respecto al fago no centrifugado, sumado a que el tiempo de centrifugación es de 2.5 horas, tiempo que podría alterar los resultados del tiempo real de contacto con la composición antimicrobiana y desinfectante, como se aprecia en la Figura 4 (FIG. 4).

REIVINDICACIONES

1. Una composición antimicrobiana, que comprende:

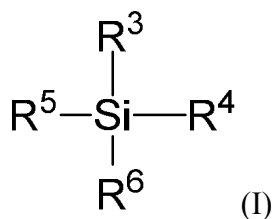
- a) un agente antimicrobiano, seleccionado del grupo que consiste en al menos una biguanida, un amonio cuaternario, un líquido iónico, una isotiazolinona, un hidroxi-difenil éter halogenado, o combinaciones de los mismos;
- b) un agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano.

2. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 1, en donde el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo que consiste en $(R^1)_X$ -alquil C_{1-6} -(R^2) $_Z$, $(R^1)_X$ -cicloalquil C_{3-10} -(R^2) $_Z$, $(R^1)_X$ -aril C_{6-10} -(R^2) $_Z$, o combinaciones de los mismos;

en donde R^1 y R^2 representan independientemente -CHO, -COOH, -CO, -OH, -SH, amino; y

en donde x y z representan independientemente un número entero mayor o igual a 1.

3. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 1, en donde el compuesto alquilo-silano tiene la fórmula (I),



en donde R^3 , R^4 , R^5 y R^6 representan independientemente alquil C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} , opcionalmente sustituidos por al menos un: amino, alquilo C_{1-6} , alquil C_{1-6} -amino, alquil C_{1-6} -diamino, alquil C_{1-6} -carboxilo, halo, carboxi, -SH, cicloalcoxi C_{3-10} , alcoxi C_{1-6} , o combinaciones de los mismos.

4. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 1, en donde la biguanida se selecciona del grupo que consiste en gluconato de clorhexidina, clorhidrato de clorhexidina, clorhexidina, o combinaciones de los mismos.

5. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 1, en donde el amonio cuaternario se selecciona del grupo que consiste en cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, cetrimida, bromuro de benzalconio, triclorobenceno fenoxifenil éter, o combinaciones de los mismos.

5

6. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 2, en donde el compuesto entrecruzante se selecciona del grupo que consiste en glutaraldehído, aldehído ftálico, aldehído isoftálico, aldehído terftálico, o combinaciones de los mismos.

10 7. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 3, en donde el compuesto alquilo-
silano se selecciona del grupo que consiste en (3-aminopropil)-triethoxisilano (APTES), (3-
aminopropil)-trimethoxisilano (APTMS), (3-cloropropil)triethoxisilano, (3-
cloropropil)(dimetoxi)metilsilano, tetramethoxisilano, tetraethoxisilano, 3-(2-
aminoetilamino)propil-dimethoximetilsilano, 3-metacriloxipropiltrimethoxisilano, 3-
15 mercaptopropiltriethoxisilano, N-[3-(trimethoxisilil)propil]etilendiamina, 3-
Glicidoxipropiltrimethoxisilano, N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimethoxisilano, o
combinaciones de los mismos.

8. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 1, en donde el agente
20 antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en gluconato de clorhexidina y cloruro de
benzalconio; y el agente de anclaje se selecciona del grupo que consiste en glutaraldehído y
APTES.

9. La composición antimicrobiana de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en
25 donde el agente antimicrobiano se encuentra entre 0.01 – 110 partes en peso, por 0,01 – 10
partes en peso del agente de anclaje.

10. La composición antimicrobiana de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en
donde, en el agente antimicrobiano, el amonio cuaternario se encuentra entre 1 - 34 partes en
30 peso, por 1 - 8 partes en peso de biguanida.

11. La composición antimicrobiana de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde, en el agente de anclaje, el compuesto alquilo-silano se encuentra entre 0,001-10 partes en peso, por 0,001-10 partes en peso de compuesto entrecruzante.

5 12. La composición antimicrobiana de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende: (a) entre 0.01 – 70 partes en peso de al menos una biguanida y entre 0.01 – 5 partes en peso de un amonio cuaternario; (b) entre 0.01 – 1,5 partes en peso de un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano.

10 13. Una composición antimicrobiana, que comprende:

	Composición			
Componente	A		B	
	Ingrediente	Partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	2	gluconato de clorhexidina	1.5
	cloruro de benzalconio	1.5	cloruro de benzalconio	2
Agente de anclaje	Glutaraldehído	0.5	Glutaraldehído	0.5
	APTES	0.5	APTES	0.5

	Composición			
Componente	C		D	
	Ingrediente	Partes	Ingrediente	partes
Agente antimicrobiano	gluconato de clorhexidina	2.0	gluconato de clorhexidina	5
	cloruro de bencetonio	2.5	Triclorobenceno fenoxifenil éter	1.5
Agente de anclaje	Aldehído isoftálico	0.5	Glutaraldehído	0.5

	(3-aminopropil)- trimetoxisilano (APTMS)	0.5	(3-aminopropil)- trimetoxisilano (APTMS)	0.7
--	--	-----	--	-----

14. La composición antimicrobiana de la Reivindicación 1 que comprende de 0.1 a 70% p/p de una biguanida, de 0.1 a 6.0% p/p de un amonio cuaternario, 0.01 a 5% del agente de anclaje, y de 10 a 80% p/p de agua.

5

15. Un proceso para obtener la composición antimicrobiana de la Reivindicación 1 que comprende:

a) mezclar una primera fracción del agente antimicrobiano con una primera fracción del compuesto alquilo-silano;

10 b) adicionar a la mezcla de la etapa a) el compuesto entrecruzante;

c) adicionar a la mezcla de la etapa b) la fracción restante del compuesto alquilo-silano;

d) adicionar a la mezcla de la etapa c) la fracción restante del agente antimicrobiano.

15

16. El proceso para obtener la composición antimicrobiana de la Reivindicación 15, que comprende:

a) mezclar una primera fracción de un agente antimicrobiano con una primera fracción del compuesto alquilo-silano, a agitación constante de 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35 °C;

20

b) adicionar a la mezcla de la etapa a) el compuesto entrecruzante;

c) adicionar a la mezcla de la etapa b) la fracción restante del compuesto alquilo-silano y mezclar en agitación constante de 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35 °C;

25

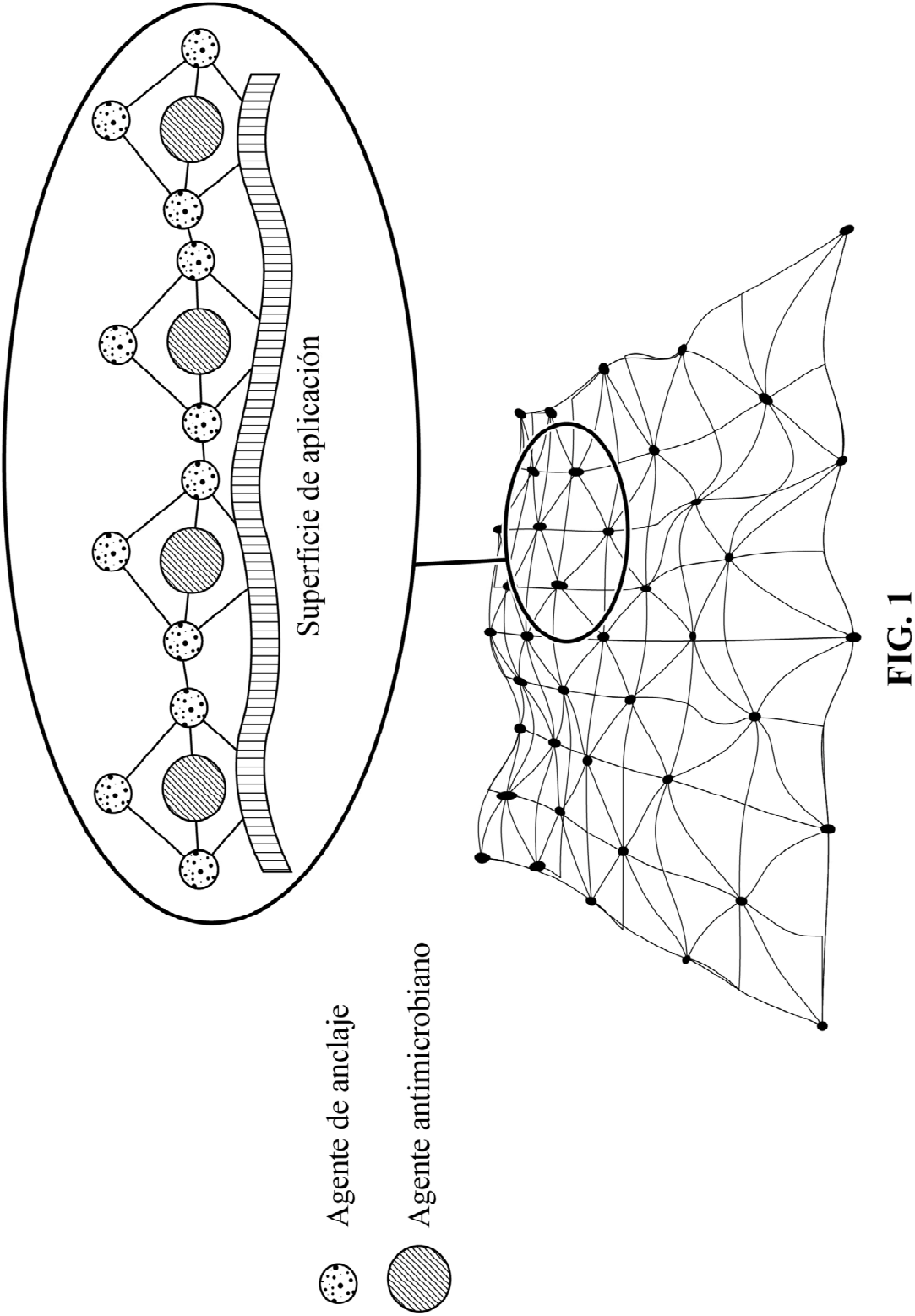
d) someter la mezcla de la etapa c) a agitación constante durante 30 a 50 minutos;

e) adicionar a la mezcla de la etapa d) la fracción restante del agente antimicrobiano en agitación constante por 10-40 min a 500-1200 rpm y a una temperatura en el rango de 20 – 35°C.

RESUMEN

La presente invención hace referencia a una composición antimicrobiana y desinfectante que comprende un agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en al menos una
5 biguanida, un amonio cuaternario, un líquido iónico, una isotiazolinona, un hidroxí-difenil éter halogenado, o combinaciones de los mismos; y un agente de anclaje, que consiste en un compuesto entrecruzante y un compuesto alquilo-silano. En particular, la composición lograr una actividad desinfectante de amplio espectro para múltiples aplicaciones en superficies como:
celulosa, plástico, metal, cartón, madera, especialmente, en la desinfección de espacios de alto
10 tráfico como hospitales, buses y centros comerciales.

FIGURAS



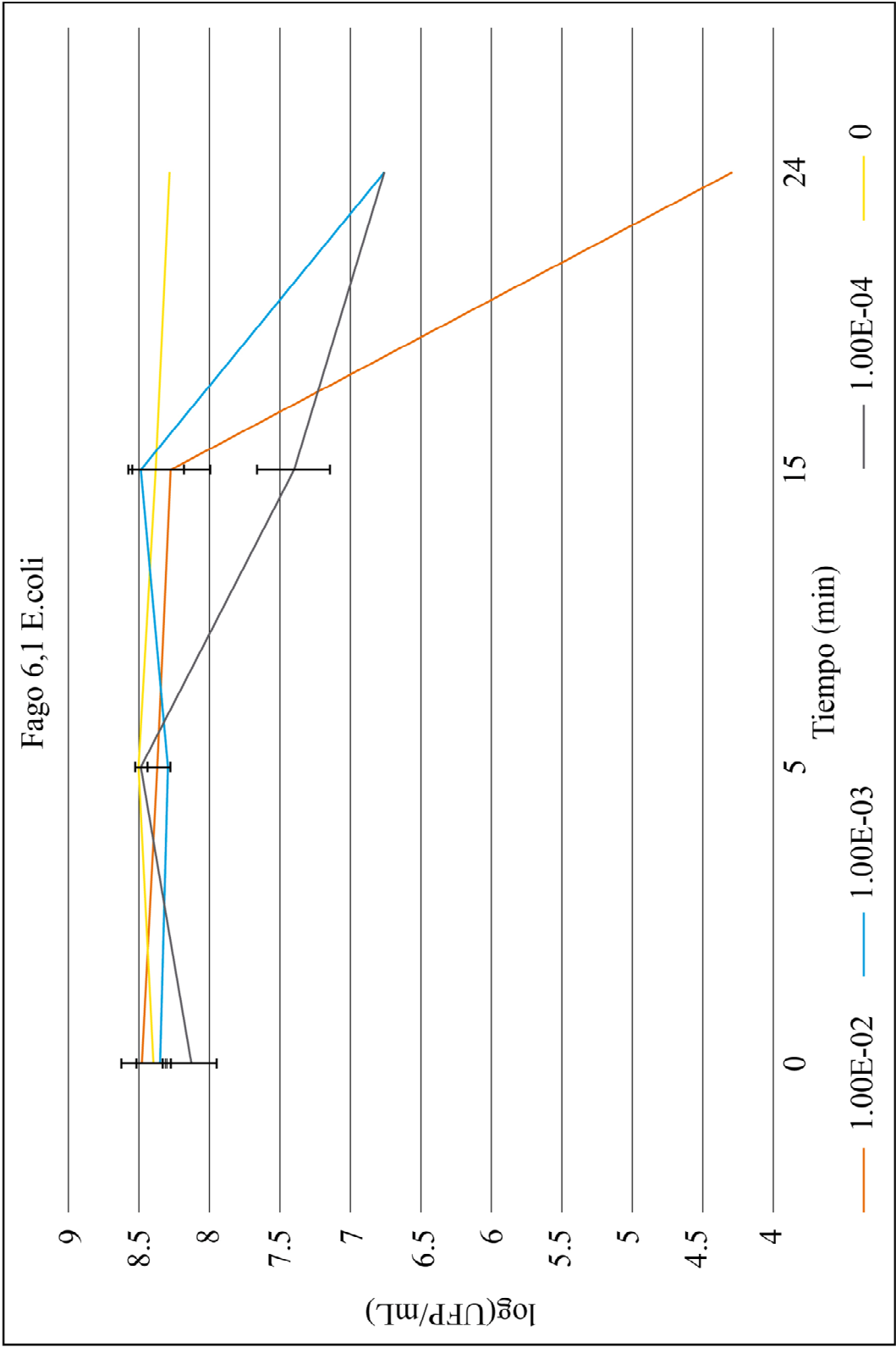


FIG. 2

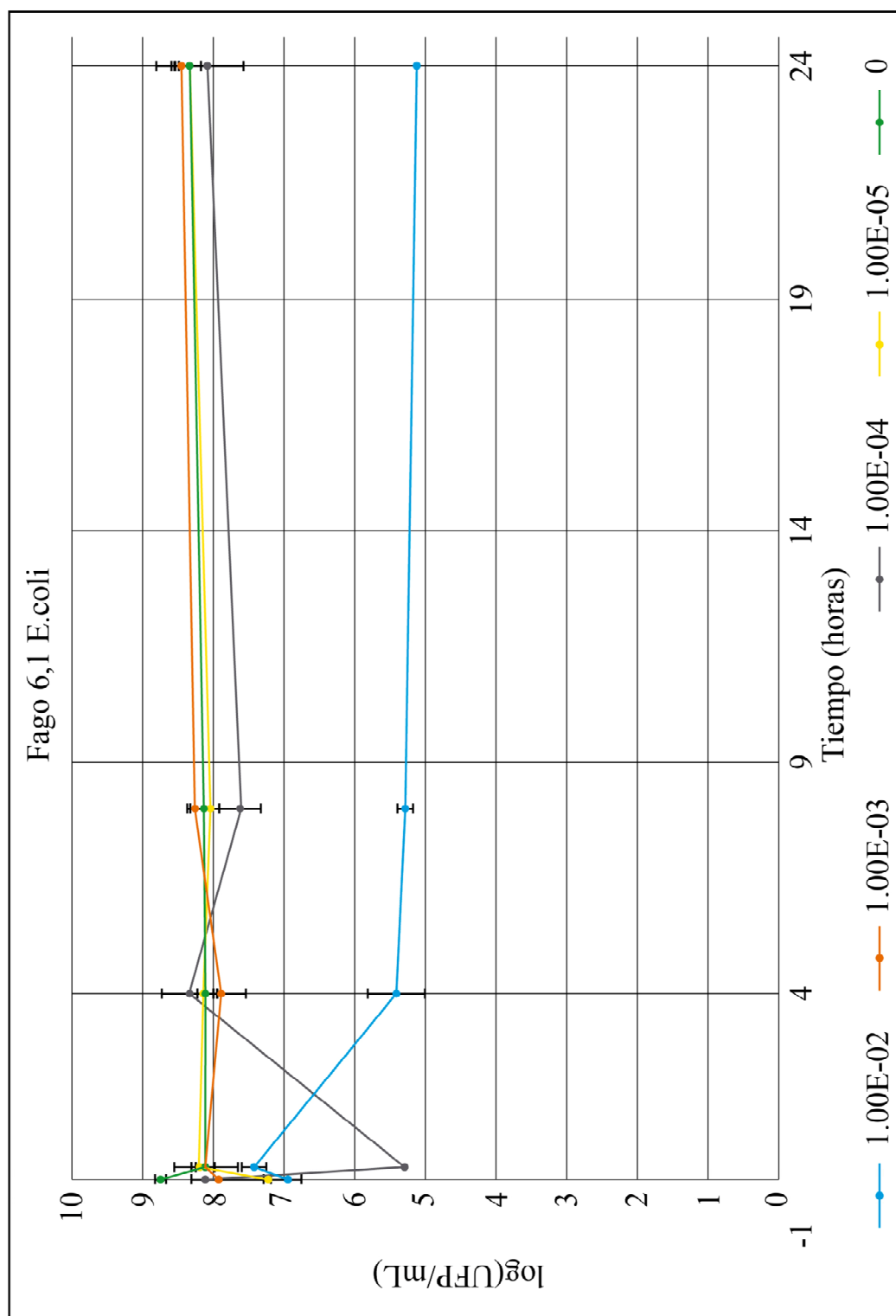


FIG. 3

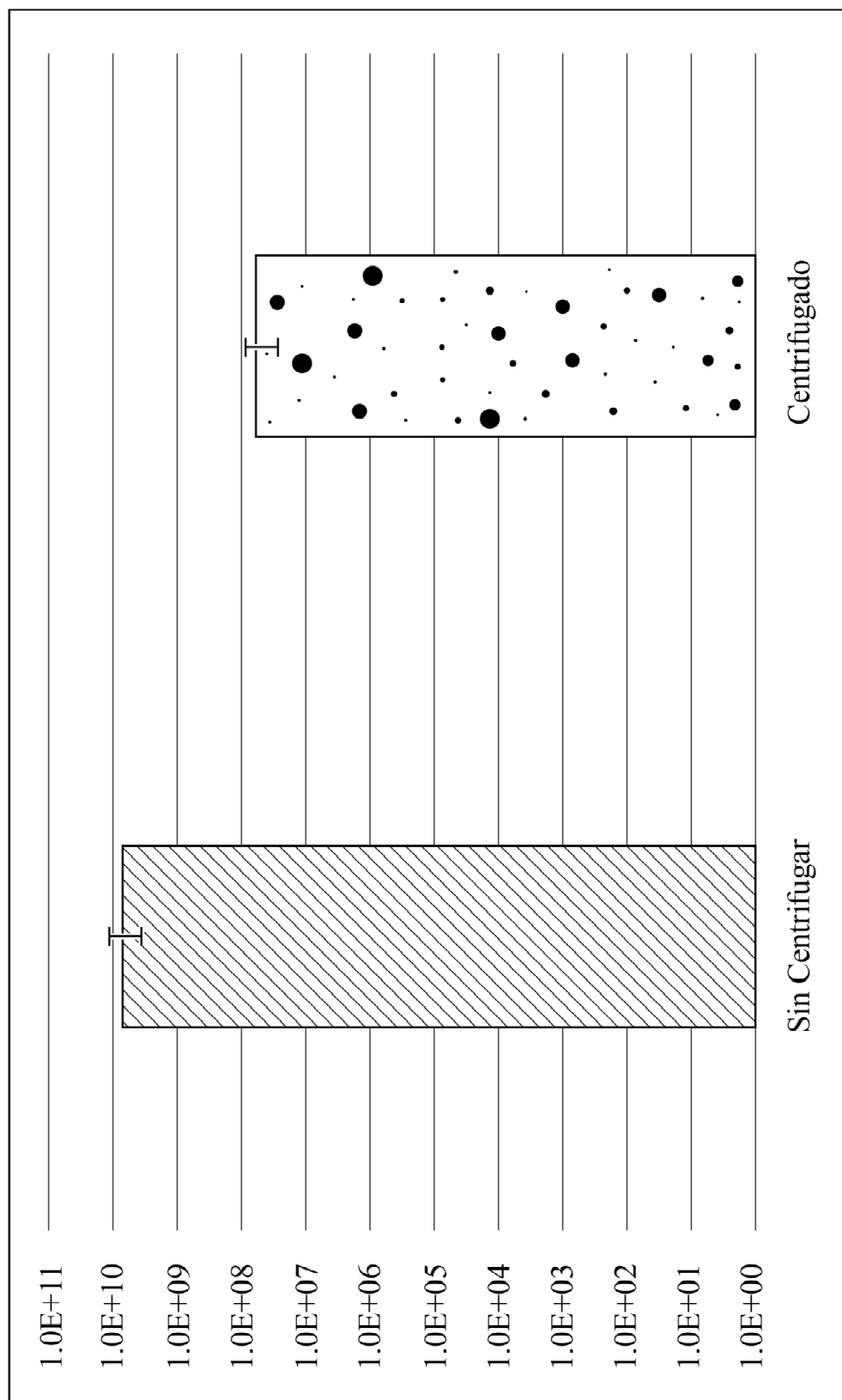


FIG. 4

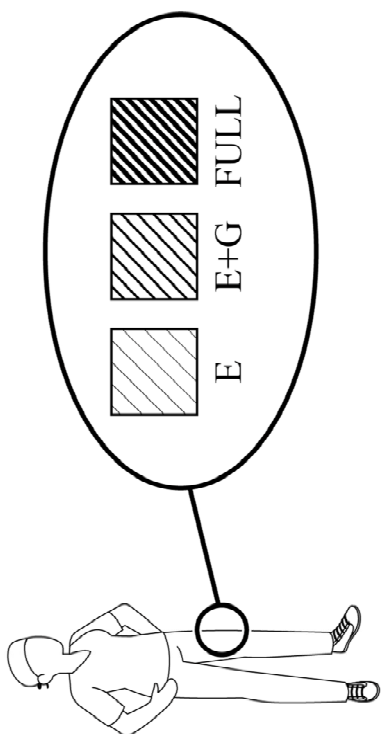


FIG. 5B

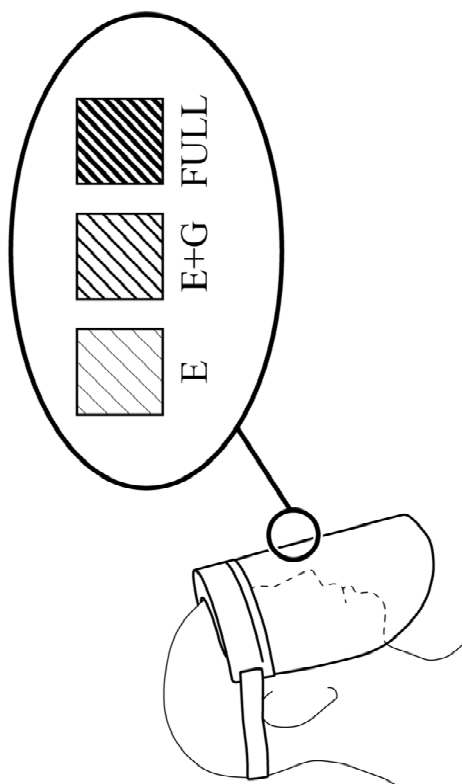


FIG. 5D

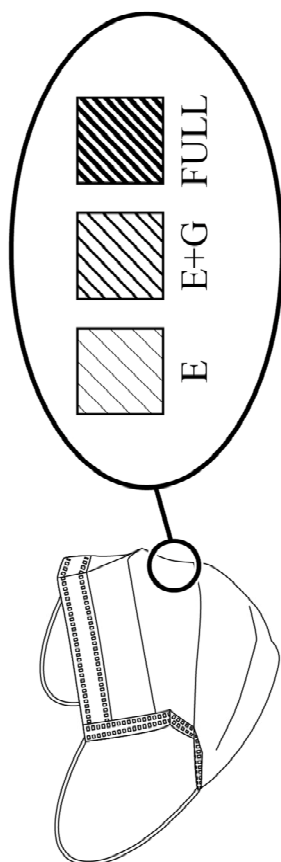


FIG. 5A

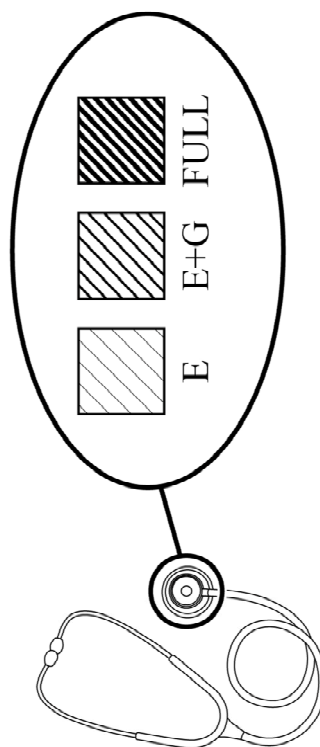


FIG. 5C

FIG. 5