

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 943 258**

51 Int. Cl.:

A61L 2/28 (2010.01)

G02B 5/124 (2014.01)

B29D 11/00 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2015** **PCT/GB2015/051789**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.12.2015** **WO15193676**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2015** **E 15736008 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.02.2023** **EP 3157582**

54 Título: **Protección de lentes de contacto de la contaminación microbiana provocada por la manipulación**

30 Prioridad:

19.06.2014 US 201462014348 P

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

12.06.2023

73 Titular/es:

**COOPERVISION INTERNATIONAL LIMITED
(100.0%)**

**Delta Park Concorde Way Segensworth North
Fareham PO15 5RL, GB**

72 Inventor/es:

**MALTSEVA, INNA;
MORRIS, CAROL ANN;
KHONG, KATHLEEN y
LUK, ANDREW**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 943 258 T3

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

DESCRIPCIÓN

Protección de lentes de contacto de la contaminación microbiana provocada por la manipulación

5 CAMPO

El campo de la invención es envases para lentes de contacto.

10 ANTECEDENTES

La contaminación microbiana de las lentes de contacto es un grave problema de salud pública debido a sus implicaciones en los infiltrados e infecciones oculares, y la queratitis microbiana. Los estudios han demostrado que la manipulación de las lentes aumenta enormemente la incidencia de contaminación microbiana de las lentes (véase por ejemplo Szczotka-Flynn y col., *Eye Contact Lens* (2010) 36(2):116-29). Los portadores de lentes de contacto desechables diarias pueden encontrarse particularmente en riesgo de contaminación debido al almacenamiento inadecuado de las lentes de contacto después de su uso en su solución de envasado original y posterior reutilización (Boost y col., *Optom Vis Sci* (2011) 88(12):1409-13).

La ϵ -polilisina es un homopolímero de aproximadamente 25-35 residuos de L-lisina en el cual se enlazan los grupos épsilon-amino y carboxilo de la L-lisina. Es un polímero de origen natural producido por las especies de *Streptomyces*. El mismo tiene una actividad antimicrobiana de amplio espectro y se ha usado ampliamente como un conservante alimentario en Japón y como un aditivo en una variedad de productos de consumo. Se ha descrito el uso de ϵ -polilisina en soluciones de cuidado de lentes de contacto (véase por ejemplo la patente de los Estados Unidos núm. 6.187.264, y la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2005/0074467). Se han divulgado hidrogeles antimicrobianos elaborados a partir de metacrilamida con injerto de épsilon-poli-L-lisina (Zhou y col., *Biomaterials* 32 (2011) 2704-2712).

Otras publicaciones antecedentes incluyen la solicitud de patente de los Estados Unidos núm. 14/109.976 en tramitación, la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2012/0074352, la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2011/0071091, la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2005/0074467, la publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2004/0135967, la patente de los Estados Unidos núm. 4.168.112, la patente de los Estados Unidos núm. 7.282.214, la patente de los Estados Unidos núm. 7.402.318, la patente EP núm. 1328303B1, y la publicación PCT núm. WO94/13774. El documento WO 2011/005937 A2 describe monómeros de siloxano útiles en la fabricación de dispositivos oftálmicos que pueden envasarse en soluciones que contienen polipéptidos tales como poli(lisina). El documento EP 1 473 584 describe una solución para lentes de contacto para el lavado, la desinfección y la conservación que contiene polilisina, junto con ácido polifosfórico y/o su sal para prevenir la adsorción de la polilisina. El documento EP2666484 describe una formulación líquida que comprende polipéptido de polilisina como agente antimicrobiano.

40 RESUMEN

La invención proporciona un envase sellado, esterilizado en autoclave para lentes de contacto que comprende una lente de contacto estéril, sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto, dicha solución de envasado para lentes de contacto comprende épsilon polilisina (ϵ PLL), en el que la lente de contacto sin usar exhibe contaminación reducida de al menos un microbio, en el que dicha contaminación reducida se determina mediante una prueba donde la *Pseudomonas aeruginosa* (PA) introducida a la lente durante su extracción de la solución de envasado para lentes de contacto se compara con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto idéntica pero sin dicha ϵ PLL, dando como resultado la lente de contacto sin usar menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*, en el que el envase para lentes de contacto comprende (a) un miembro de base de plástico que comprende una cavidad que contiene la lente de contacto y la solución de envasado y (b) una lámina extraíble unida a la región de reborde para proporcionar el envase sellado para lentes de contacto.

55 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Demostramos que la extracción inicial de las lentes de contacto de su envase estéril original puede dar como resultado una contaminación microbiana significativa de las lentes, aun cuando se manipulan inmediatamente después del lavado de las manos. Hemos descubierto que la adición de épsilon polilisina (ϵ PLL) a la solución de envasado para lentes de contacto puede reducir o eliminar completamente esta contaminación por manipulación de la lente. Este efecto protector no requiere la unión de la ϵ PLL al material de la lente de contacto. Por lo tanto, la presente invención tiene la ventaja de ser aplicable a cualquier tipo de material para lentes de contacto. Es particularmente ventajosa en situaciones donde el contacto prolongado del ojo de un portador con un agente antimicrobiano no es deseado o es innecesario. En esta invención se describe un envase sellado para lentes de

contacto que comprende una lente de contacto estéril, sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto que comprende épsilon polilisina (ϵ PLL) en una cantidad eficaz para reducir o eliminar completamente la contaminación microbiana introducida a la lente durante su extracción del envase. Como se usa en esta invención, “sin usar” significa que la lente de contacto nunca se ha colocado en un ojo, y “sellado” significa que tiene un sello hermético al agua.

Con la presente invención, se proporciona según la reivindicación 1, un envase sellado para lentes de contacto que comprende una lente de contacto estéril, sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto que comprende épsilon polilisina (ϵ PLL). La lente de contacto sin usar exhibe contaminación reducida de al menos un microbio en comparación con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto idéntica pero sin dicha ϵ PLL. La contaminación reducida puede determinarse mediante una prueba donde la *Pseudomonas aeruginosa* (PA), introducida a la lente durante su extracción de la solución de envasado para lentes de contacto se compara con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto idéntica pero sin dicha ϵ PLL. El al menos un microbio puede comprender, consistir en, consistir esencialmente en, o incluir *Pseudomonas aeruginosa* y/o *Staphylococcus aureus*, y/o el al menos un microbio es un(os) microbio(s) que se encuentra(n) en la queratitis microbiana y/o al menos un microbio que provoca al menos en parte o completamente infiltrados y/o infecciones oculares. La contaminación reducida se determina en la prueba donde la lente de contacto sin usar da como resultado menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*.

La lente de contacto sellada en el envase para lentes de contacto de la presente descripción puede ser un hidrogel convencional o y un hidrogel de silicona. Como se usa en esta invención, un “hidrogel convencional” se refiere a un material formado a partir de la polimerización de uno o más monómeros hidrófilos tales como metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) o alcohol vinílico, opcionalmente en combinación con otros monómeros, y que no contiene siloxano (es decir una molécula que comprende al menos un grupo Si-O). Los ejemplos de hidrogeles convencionales incluyen etafilcon A, nelfilcon A, ocufilcon B, ocufilcon D, omafilcon A, omafilcon D y polimacon. Los materiales de hidrogel de silicona se forman típicamente a partir de la polimerización de uno o más monómeros o prepolímeros que comprenden al menos un grupo Si-O con uno o más monómeros hidrófilos. Los ejemplos de hidrogeles de silicona incluyen balafilcon A, comfilcon A, enfilcon A, somofilcon A, naraafilcon A, naraafilcon B, lotrafilcon A, stenfilcon A, y senofilcon A. En un ejemplo específico, el envase sellado para lentes de contacto comprende una lente de contacto de hidrogel de silicona estéril, sin usar. En un ejemplo específico, la lente de contacto de hidrogel de silicona es no iónica, lo que significa que no contiene grupos aniónicos que se unen a los grupos amino catiónicos presentes en la ϵ PLL por medio de interacción iónica. En un ejemplo específico adicional, la lente de contacto de hidrogel de silicona se fabrica a partir de un material seleccionado de comfilcon A o stenfilcon A. En otro ejemplo, el envase sellado para lentes de contacto comprende una lente de contacto de hidrogel convencional sin usar fabricada a partir de un material seleccionado de ocufilcon B, ocufilcon D, u omafilcon A.

La lente de contacto sellada en el envase para lentes de contacto de la presente descripción puede ser de cualquier modalidad de uso de lentes. La modalidad de uso de lentes se refiere a cuántos días y noches consecutivas la lente puede usarse sin extraerse. En un ejemplo, la lente de contacto sellada en el envase para lentes de contacto de la presente descripción es una lente desechable diaria. Las lentes desechables diarias se indican para un único uso, hasta aproximadamente 12 o 16 horas de uso continuo, y deben desecharse después del único uso. En otro ejemplo, la lente de contacto sellada en el envase para lentes de contacto de la presente descripción es una lente de uso diario. Las lentes de uso diario se usan durante las horas de vigilia, típicamente hasta aproximadamente 12 a 16 horas, y se extraen antes de dormir. Las lentes de uso diario se almacenan típicamente en un estuche para lentes de contacto que contiene una solución de cuidado de lentes de contacto para limpiar y desinfectar la lente durante las horas en que no se usa. Las lentes de uso diario se desechan típicamente después de un máximo de 30 días de uso. Aún en otro ejemplo, la lente de contacto es una lente de contacto de uso prolongado. Las lentes de uso prolongado se usan típicamente de forma continua durante hasta 6, 14 o 30 días y noches consecutivos.

La solución de envasado sellada dentro del envase para lentes de contacto de la presente descripción es una solución compatible con lentes de contacto que comprende una cantidad eficaz de ϵ PLL. En un ejemplo, la solución de envasado comprende, consiste, o consiste esencialmente, en una solución acuosa de un tampón, y/o un agente de tonicidad, y ϵ PLL. En otro ejemplo, la solución de envasado contiene agentes adicionales tales como uno o más agentes antimicrobianos adicionales, y/o un agente de confort, y/o un polímero hidrófilo, y/o un surfactante y/u otro aditivo que evite que la lente se adhiera al envase. La solución de envasado puede tener un pH en el intervalo de aproximadamente 6,8 o 7,0 hasta aproximadamente 7,8 u 8,0. En un ejemplo, la solución de envasado comprende tampón fosfato o tampón borato. En otro ejemplo, la solución de envasado comprende un agente de tonicidad seleccionado de cloruro sódico o sorbitol en una cantidad para mantener la osmolalidad en el intervalo de aproximadamente 200 a 400 mOsm/kg, y típicamente de aproximadamente 270 mOsm/kg hasta aproximadamente 310 mOsm/kg. A lo largo de esta descripción una referencia a “ejemplos”, “el ejemplo”, “un ejemplo”, o frase similar, se destina a introducir una característica o características del envase para lentes de contacto, la lente de contacto sin usar, o la solución de envasado, ya que puede darse el caso (en dependencia del contexto) de que pueda

combinarse con cualquier combinación de ejemplos descritos anteriormente o que se describen posteriormente (es decir características), a menos que una combinación particular de características sea mutuamente excluyente, o que el contexto lo indique de cualquier otra manera.

5 Una cantidad eficaz de ϵ PLL es una cantidad que reduce la contaminación microbiana introducida a la lente durante su extracción del envase para lentes de contacto (en el que dicha contaminación reducida se determina mediante una prueba donde se introduce *Pseudomonas aeruginosa* (PA) a la lente durante su extracción de la solución de envasado para lentes de contacto y en comparación con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto idéntica pero sin dicha ϵ PLL, y en el que la lente de contacto sin usar da como resultado menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*. La capacidad de la ϵ PLL de reducir la contaminación microbiana introducida a una lente durante su extracción de un envase puede demostrarse con el uso de la metodología sustancialmente como se describe en el Ejemplo 1 o en el Ejemplo 2 más abajo. El Ejemplo 1 demuestra que la contaminación microbiana de lentes de contacto provocada por la flora normal, no patógena de la piel puede reducirse significativamente mediante la inclusión de ϵ PLL en la solución de envasado para lentes de contacto. El Ejemplo 2 demuestra que la contaminación microbiana de lentes de contacto provocada por *Pseudomonas aeruginosa* (PA), uno de los patógenos más comunes implicados en la queratitis microbiana, también puede reducirse significativamente mediante la inclusión de ϵ PLL en la solución de envasado para lentes de contacto. Ventajosamente, la lente de contacto sin usar exhibe contaminación reducida de PA introducida a la lente durante su extracción de la solución de envasado en comparación con una lente de contacto de control en el mismo envase que comprende una solución de envasado para lentes de contacto sin ϵ PLL pero por lo demás idéntica, como se determina con el uso de un ensayo de manipulación de lentes como se describe o sustancialmente como se describe en el Ejemplo 2. En varios ejemplos, la solución de envasado comprende ϵ PLL en cantidades de al menos 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, o 500 ppm. En ejemplos específicos, la solución de envasado comprende 10-50 ppm de ϵ PLL, 25-75 ppm de ϵ PLL, 50-150 ppm de ϵ PLL, o 100-500 ppm de ϵ PLL. La concentración de ϵ PLL en una solución de envasado se determina antes de su contacto con la lente de contacto sin usar.

30 Típicamente la ϵ PLL se encuentra disponible en el mercado como un homopolímero en el intervalo de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 residuos de lisina (LYS) (núm. de CAS 28211-04-3). Todas las fracciones del homopolímero de ϵ PLL de origen natural pueden usarse. Alternativamente, una fracción seleccionada de la ϵ PLL puede usarse (por ejemplo un homopolímero de 30-35 residuos de LYS) con eliminación del resto de las fracciones y sin usarlas en esta opción. Como una alternativa a la ϵ PLL de origen natural, la ϵ PLL usada en la solución de envasado puede obtenerse a partir de métodos de péptidos sintéticos.

35 La cantidad de ϵ PLL incluida en la solución de envasado para lentes de contacto da como resultado menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con una lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU (unidades formadoras de colonias) de PA como se determina con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro* sustancialmente como se describe en el Ejemplo 4 más abajo. Opcionalmente, la cantidad de ϵ PLL incluida en la solución de envasado para lentes de contacto da como resultado la lente de contacto de la invención que tiene un logaritmo de muerte de PA en comparación con una lente de contacto de control de 0,05 a 1,95, tal como de 0,10 a 1,90. La cantidad de ϵ PLL incluida en la solución de envasado para lentes de contacto puede dar como resultado, por ejemplo, un logaritmo de muerte de PA en comparación con una lente de contacto de control de 0,05 a 1,5, tal como de 0,1 a 1,0. En tales ejemplos el envase para lentes de contacto sigue siendo eficaz contra la contaminación microbiana introducida a partir de la manipulación inicial de la lente durante su extracción de su envase original, y por lo tanto es particularmente adecuado para una lente de contacto desechable diaria.

50 Demostramos en el Ejemplo 2 más abajo que una vez que la lente de contacto sin usar se extrae del envase para lentes de contacto la solución de envasado restante cuando se cubre con la lámina del envase tipo ampolla original puede resistir la contaminación microbiana cuando se deja a temperatura ambiente hasta 16 horas. Por lo tanto, el envase para lentes de contacto descrito en esta invención puede proporcionar protección contra la contaminación microbiana que pudiera surgir de un portador de lente diaria incumplidor que almacena una lente usada durante la noche en su envase original y solución de envasado restante para un segundo día de uso. Por lo tanto, el envase para lentes de contacto comprende un miembro de base de plástico que comprende una cavidad configurada para contener la lente de contacto y la solución de envasado y una región de reborde que se extiende hacia fuera alrededor de la cavidad. Una lámina extraíble se une a la región de reborde para proporcionar un envase sellado para lentes de contacto. Estos envases para lentes de contacto, que se denominan comúnmente "envases tipo ampolla", son muy conocidos en la técnica (véase por ejemplo la patente de los Estados Unidos núm. 7.426.993).

60 Se apreciará que pueden usarse métodos de fabricación convencionales para fabricar el envase sellado para lentes de contacto de cualquiera de los ejemplos anteriores. Por lo tanto, en un aspecto de la presente descripción se encuentra un método para fabricar un envase para lentes de contacto según la reivindicación 6 que incluye la etapa de colocar una lente de contacto sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto que comprende ϵ PLL en un receptáculo, colocar una cubierta sobre el receptáculo, y sellar la cubierta sobre el receptáculo. Generalmente,

el receptáculo se configura para recibir una sola lente de contacto y en una cantidad de solución de envasado suficiente para cubrir completamente la lente de contacto, típicamente aproximadamente 0,5-1,5 ml. El receptáculo comprende un miembro de base de plástico que comprende una cavidad configurada para contener la lente de contacto y la solución de envasado y una región de reborde que se extiende hacia fuera alrededor de la cavidad, y la cubierta comprende una lámina extraíble unida a la región de reborde para proporcionar el envase sellado para lentes de contacto. La lámina extraíble puede sellarse mediante cualquier medio convencional tal como sellado por calor o pegado. El método para fabricar el envase sellado para lentes de contacto comprende además esterilizar la lente de contacto sin usar mediante la esterilización en autoclave del envase sellado para lentes de contacto.

Los detalles de la lente o las lentes de contacto, los componentes de la solución, las formulaciones, y todos de los otros diversos detalles como se describe en la solicitud de patente de los Estados Unidos núm. 14/109.976, depositada el 18 de diciembre de 2013 y titulada "Antimicrobial Ophthalmic Devices".

EJEMPLOS

Los siguientes Ejemplos ilustran ciertos aspectos y ventajas de la presente invención, que deben entenderse como no limitados de esta manera.

Ejemplo 1: Contaminación de lentes de contacto comerciales después de su manipulación con las manos lavadas.

En este estudio de manipulación de lentes se usaron lentes de contacto de balafilcon A disponibles en el mercado en su envase tipo ampolla original. Cinco individuos lavaron sus manos con jabón y agua y secaron sus manos con el uso de toallas de papel. El investigador abrió asépticamente la cubierta laminar de cada envase tipo ampolla con una mano enguantada. Cada individuo extrajo y frotó suavemente la lente durante aproximadamente 5 segundos con el uso de la misma mano usada para cerrar el grifo. A continuación cada lente frotada se colocó en un tubo de microcentrifuga de 2 ml (Eppendorf™) estéril individual con 1 ml de PBS-T y se tapó. Como se usa en esta invención, PBS se refiere a solución salina regulada con fosfato de 0,78 % en peso de NaCl, 0,05 % en peso de fosfato monobásico sódico, y 0,36 % en peso de fosfato dibásico sódico a pH 7,5. PBS-T se refiere a PBS con 0,05 % de polisorbato 80.

Para extraer cualquier bacteria de las lentes manipuladas, los tubos se sometieron a ultrasonidos por 3 ciclos de 30 segundos cada uno con 10 segundos intermedios de agitación por vórtice. Después de la sonicación final los tubos se agitaron por vórtice durante 10 minutos a 1000 rpm con el uso de un agitador de vórtice de múltiples tubos. Todo el volumen del extracto de cada tubo se inoculó sobre una placa de agar sangre, se dejó secar en una campana bioquímica, y se incubó a 37 °C durante 48-72 horas. Las bacterias se contaron y se informaron como CFU/lente. Cada bacteria con un fenotipo distinto se identificó con el uso de un equipo Biotyper.

Niveles detectables de contaminación de bacterias comunes de la piel (*Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus warneri*) se encontraron en las cinco lentes de contacto de balafilcon A. El intervalo de contaminación fue de 115-6500 CFU/lente. Ninguna lente era estéril. Aunque las bacterias identificadas no se encuentran comúnmente en la queratitis microbiana, pueden provocar enfermedad en pacientes inmunocomprometidos.

Para determinar si la εPLL en una solución de envasado para lentes de contacto protegerá inmediatamente contra los microbios depositados durante la extracción de la lente de un envase tipo ampolla, el estudio de manipulación de lentes anterior se repitió con el uso de lentes de contacto de ocufilecon D, comfilecon A, y omafilecon A envasadas individualmente en un envase tipo ampolla para lentes de contacto que contiene una solución de envasado de PBS o PBS con 500 ppm de εPLL, sellado con una cubierta laminar, y esterilizado en autoclave. Las tres lentes demostraron una reducción significativa de la carga biológica cuando la εPLL estaba presente en la solución de envasado, con el siguiente promedio del logaritmo de muerte: ocufilecon D - 2,4, comfilecon A - 1,4, y omafilecon A - 2,2.

Por último, repetimos el estudio de manipulación de lentes anterior para comparar el nivel de contaminación de una lente de contacto de ocufilecon D extraída de un envase sellado esterilizado en autoclave que contiene solución de envasado de PBS con o sin 500 ppm de εPLL. Además determinamos el nivel de contaminación microbiana de lentes de contacto de ocufilecon D que se extrajeron de sus envases sellados esterilizados en autoclave que contienen solución de envasado de PBS. Las lentes se extrajeron de sus envases asépticamente con el uso de pinzas estériles y se colocaron en un pocillo de una placa de 24 pocillos que contiene 1 ml de soluciones para lentes de contacto de la marca Optifree™ o AQuify™. Las lentes expuestas a soluciones para lentes de contacto de la marca ClearCare™ se colocaron en el soporte para lentes proporcionado por el fabricante. Después de remojar durante la noche, las lentes (5 para cada solución para lentes) se extrajeron de la solución de cuidado utilizando el anterior protocolo de manipulación de lavado de manos y se extrajeron como se describió anteriormente. Como se esperaba, la solución para lentes de contacto ClearCare™, que no contiene ningún agente antimicrobiano, no proporcionó protección contra la contaminación por manipulación. Sin embargo, sorprendentemente, ninguna de las

soluciones de cuidado de lentes de contacto de las marcas Optifree™ o Aquify™, que contienen agentes antimicrobianos activos, tuvo algún efecto significativo sobre la carga biológica. Solo la solución que contiene εPLL en el envase tipo ampolla dio como resultado una reducción estadísticamente significativa del recuento de bacterias ($p=0,00002$). Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Solución		Sujeto #					Promedio	Desv. Est.	Valor P
		1	2	3	4	5			
PBS	Log CFU/Lente	2,3	2,8	2,4	3,0	2,8	2,7	0,27	
PBS + 500 ppm de εPLL		1,1	0,7	0	0,3	0,8	0,6	0,39	0,00002
Optifree™		2,3	2,6	1,1	2,2	2,1	2,1	0,51	0,070
Aquify™		2,4	2,7	2,9	3,0	3,3	2,9	0,30	0,348
ClearCare™		0,5	2,5	2,3	2,8	,35	2,3	1,00	0,528

Estos experimentos indican que la manipulación es una fuente significativa de contaminación microbiana de lentes de contacto de hidrogel convencional y de hidrogel de silicona. La εPLL protege contra bacterias derivadas del ambiente depositadas sobre la lente por manipulación de la lente. El arrastre de εPLL de una solución de envasado redujo significativamente la carga biológica suministrada por la manipulación.

Ejemplo 2: Ensayo de manipulación de lentes - contaminación de lentes de contacto con patógenos comunes en la queratitis microbiana

La adherencia de bacterias sobre la superficie de lentes de comfilcon A extraídas de envases tipo ampolla esterilizados en autoclave que contienen una solución de envasado de PBS con o sin εPLL (10, 25, 100, o 500 ppm) se evaluó con el uso de una modificación de los métodos descritos en Nomachi y col., Eye & Contact Lens (2013) 39:234-238. En resumen, la adherencia de bacterias sobre la superficie de lentes de contacto de comfilcon A se evaluó con el uso de soluciones de reserva de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) y *Staphylococcus aureus* (SA) preparadas sustancialmente como se describe en el Ejemplo 3 más abajo. Se colocaron guantes plásticos quirúrgicos estériles en ambas manos asépticamente. Después de abrir el sello del envase de comfilcon A, los dedos pulgar e índice de una mano enguantada se sumergieron en la suspensión bacteriana (aproximadamente 10^3 CFU/ml en PBS) y se usaron para extraer una lente de un envase. Se sometieron a prueba cuatro lentes de cada tipo de solución de envasado. Cada lente se colocó en un tubo de microcentrifuga con 1 ml de PBS-T, se sometió a ultrasonidos durante 1,5 minutos y se agitó por vórtice durante 10 minutos a 1000 rpm. Todo el volumen del extracto se inoculó en una placa de cultivo con agar de soja triptico (TSA) y se cultivó a 37 °C durante 2 días en una incubadora.

La Tabla 2 más abajo muestra el promedio de CFU/Lente ($n=4$) en lentes de contacto extraídas de las diferentes soluciones de envase.

Tabla 2

Organismo	0 ppm de εPLL	10 ppm de εPLL	25 ppm de εPLL	100 ppm de εPLL	500 ppm de εPLL
PA	54	42	16	1	0
SA	43	37	35	21	7

Después de extraer las lentes de contacto con el dedo y el pulgar contaminados con PA, como se describió anteriormente, el envase tipo ampolla y la solución de envasado restante se dejaron cubiertos con la lámina del envase tipo ampolla original a temperatura ambiente. Después de 16 horas, todo el volumen de solución de envasado restante (~ 1 ml) se inoculó en una placa de cultivo con TSA y se dejó crecer en una incubadora a 37 °C durante 2 días. La solución de envasado sin adición de ninguna ePL tuvo un promedio de 331 CFU/Lente. Ninguna de las soluciones de envase que contienen ePL exhibió crecimiento microbiano, es decir todas tuvieron 0 CFU/Lente.

Ejemplo 3: Preparación de suspensiones bacterianas

Se prepararon cultivos mediante el crecimiento de una sola colonia de cada una de las especies bacterianas que se muestran en la Tabla 3 más abajo en 50 ml de caldo de cultivo tripticasa soja (TSB) durante la noche a 37 °C en un agitador rotatorio. Se centrifugó 1 ml de cada cultivo, y el sedimento de bacterias se resuspendió en 1,0 ml del diluyente que se muestra en la Tabla 3. Para cada una de las especies bacterianas, se preparó una suspensión de aproximadamente 10^8 CFU/ml mediante la dilución de la suspensión bacteriana para obtener la densidad óptica que se indica en la Tabla 3. Cada suspensión se diluye aún más para su uso en el ensayo de manipulación descrito en el Ejemplo 2 o el ensayo de bioactividad *in vitro* descrito en el Ejemplo 4.

Tabla 3

Especies	Cepa	DO ₆₆₀	Diluyente de medio
PA	ATCC 99027	~0,1	0,01 % TSB en PBS-T
SA	ATCC 13880	~0,3	10,0 % TSB en PBS-T

5 Ejemplo 4: Ensayo de bioactividad *in vitro*

Una lente de contacto se extrae de su envase y se enjuaga en 2,5 ml de PBS estéril durante algunos segundos (por ejemplo 4 segundos) para eliminar la solución de envasado residual. A continuación la lente enjuagada se transfiere a un pocillo individual de una placa de 24 pocillos que contiene 1,0 ml de 10^4 CFU de PA. La placa se incuba a 37 °C con agitación suave durante 24 horas. La lente se extrae de su pocillo y se transfiere a un pocillo de una placa de 12 pocillos que contiene 2,5 ml de PBS estéril. La placa se agita de forma circular suavemente durante aproximadamente 30 segundos. Esta etapa se repite una vez para cada lente.

Cada lente lavada se coloca en un tubo de microcentrifuga que contiene 1 ml de caldo de cultivo neutralizante Dey-Engley (DE) y las bacterias adheridas se extraen mediante una combinación de sonicación durante aproximadamente 2 minutos y agitación por vórtice durante aproximadamente 10 minutos. Se preparan diluciones seriadas para cada suspensión celular recuperada con el uso de caldo de cultivo neutralizante DE y las diluciones adecuadas se inoculan en TSA. Las placas se incuban durante la noche a 37 °C y se cuentan las CFU.

La CFU para cada placa se multiplica por el factor de dilución (DF) así como también por el factor de dilución de inoculación (PDF). A continuación las CFU totales recuperadas para una muestra determinada se convierten al log 10. Para calcular el logaritmo de muerte de una lente de contacto envasada en una solución de envasado que comprende ϵ PLL (es decir la "lente de prueba"), el logaritmo de CFU/lente de la lente de prueba se sustrae al de una lente de control, que es idéntica a la lente de prueba y envasada en un envase y una solución de envasado para lentes de contacto idénticos excepto que la solución de envasado carece de la ϵ PLL. Por ejemplo, si el valor de log 10 promedio de una lente antimicrobiana es 1,05 y el valor de log 10 promedio de una lente de control por lo demás idéntica que carece del agente antimicrobiano activo es 5,52, el logaritmo de muerte es $5,52 - 1,05 = 4,47$.

Aunque la descripción en esta invención se refiere a ciertos ejemplos ilustrados, debe entenderse que estos ejemplos se presentan a manera de ejemplo y no a manera de limitación.

La presente invención proporciona un envase sellado, esterilizado en autoclave para lentes de contacto que comprende una lente de contacto estéril, sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto que comprende ϵ polilisina (ϵ PLL), en el que la lente de contacto sin usar exhibe contaminación reducida de al menos un microbio, en el que dicha contaminación reducida se determina mediante una prueba donde la *Pseudomonas aeruginosa* (PA) introducida a la lente durante su extracción de la solución de envasado para lentes de contacto se compara con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto idéntica pero sin dicha ϵ PLL, en el que, en la prueba, la lente de contacto sin usar da como resultado menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*, en el que, la lente de contacto es una lente de contacto de hidrogel convencional o una lente de contacto de hidrogel de silicona, y en el que el envase sellado para lentes de contacto comprende un miembro de base de plástico que comprende una cavidad configurada para contener la lente de contacto y la solución de envasado, y una región de reborde que se extiende hacia fuera alrededor de la cavidad, y una lámina extraíble unida a la región de reborde para proporcionar el envase sellado para lentes de contacto. Ventajosamente, en la prueba, la lente de contacto sin usar da como resultado menos de un logaritmo de uno de muerte de PA (pero más que un logaritmo de cero de muerte) en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*.

Opcionalmente, la lente de contacto es una lente de contacto de hidrogel de silicona. La lente de contacto puede ser una lente de contacto no iónica o una lente de contacto iónica. La lente de contacto puede ser una lente de contacto desechable diaria o una lente de contacto de uso diario.

La solución de envasado comprende opcionalmente entre 5 ppm y 500 ppm de ϵ PLL, tal como entre 5 ppm y 50 ppm de ϵ PLL.

El al menos un microbio es opcionalmente *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* o al menos un microbio es un microbio que se encuentra en la queratitis microbiana.

La invención proporciona además un método para fabricar el envase sellado para lentes de contacto, dicho método comprende

- 5 (a) colocar una lente de contacto sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto que comprende ϵ PLL en un receptáculo configurado para recibir una lente de contacto y sellar el receptáculo con una cubierta para proporcionar un envase sellado para lentes de contacto, en el que el receptáculo comprende un miembro de base de plástico que comprende la cavidad configurada para contener la lente de contacto y la solución de envasado, y la región de reborde que se extiende hacia fuera alrededor de la cavidad;
- 10 (b) sellar el receptáculo con una cubierta que comprende la lámina extraíble unida a la región de reborde para proporcionar el envase sellado para lentes de contacto; y
- (c) esterilizar la lente de contacto sin usar mediante esterilización en autoclave del envase sellado para lentes de contacto,

15 en el que la lente de contacto sin usar exhibe contaminación reducida de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) introducida a la lente durante su extracción de la solución de envasado para lentes de contacto en comparación con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto sustancialmente idéntica sin ϵ PLL, y en el que la lente de contacto sin usar da como resultado menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*.

REIVINDICACIONES

1. Un envase sellado, esterilizado en autoclave para lentes de contacto que comprende una lente de contacto estéril, sin usar y una solución de envasado para lentes de contacto que comprende épsilon polilisina (ϵ PLL),
5 donde la lente de contacto sin usar exhibe contaminación reducida de al menos un microbio, donde dicha contaminación reducida se determina mediante una prueba donde la *Pseudomonas aeruginosa* (PA) introducida a la lente durante su extracción de la solución de envasado para lentes de contacto y se compara con una lente de contacto de control envasada en una solución de envasado para lentes de contacto idéntica pero sin dicha ϵ PLL, y
10 donde la lente de contacto sin usar da como resultado menos de un logaritmo de dos de muerte de PA en comparación con la lente de contacto de control cuando se somete a prueba después de 24 horas de incubación con 10^4 CFU de PA con el uso de un ensayo de bioactividad *in vitro*,
15 donde la lente de contacto es una lente de contacto de hidrogel convencional o una lente de contacto de hidrogel de silicona,
y donde el envase sellado para lentes de contacto comprende un miembro de base de plástico que comprende una cavidad configurada para retener la lente de contacto y la solución de envasado y una región de reborde que se extiende hacia fuera alrededor de la cavidad, y una lámina extraíble unida a la región de reborde para proporcionar el envase sellado para lentes de contacto.
20
2. El envase según la reivindicación1, donde la lente de contacto es una lente de contacto no iónica.
3. El envase según cualquier reivindicación anterior, donde la lente de contacto es una lente de contacto de uso diario.
25
4. El envase según cualquier reivindicación anterior, donde la solución de envasado comprende entre 5 ppm y 500 ppm de ϵ PLL.
30
5. El envase según cualquier reivindicación anterior, donde el al menos un microbio es *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* o un microbio que se encuentra en la queratitis microbiana.
6. Un método para fabricar el envase sellado para lentes de contacto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, comprendiendo dicho método:
35 colocar la lente de contacto sin usar y la solución de envasado para lentes de contacto que comprende épsilon polilisina (ϵ PLL) en un receptáculo configurado para recibir una lente de contacto que comprende el miembro de base de plástico que comprende la cavidad configurada para contener la lente de contacto y la solución de envasado y la región de reborde que se extiende hacia fuera alrededor de la cavidad;
40 sellar el receptáculo con una cubierta que comprende la lámina extraíble unida a la región de reborde para proporcionar el envase sellado para lentes de contacto; y
esterilizar la lente de contacto sin usar mediante la esterilización en autoclave del envase sellado para lentes de contacto.
45