

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 894 756**

51 Int. Cl.:

A01N 59/20 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.08.2013** **PCT/US2013/054040**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.02.2014** **WO14025949**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.08.2013** **E 13827838 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.07.2021** **EP 2882295**

54 Título: **Proceso para la preparación de superficies sólidas antimicrobianas**

30 Prioridad:

09.08.2012 US 201261681158 P

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

15.02.2022

73 Titular/es:

EOS SURFACES LLC (50.0%)
301 East 20th Street
Norfolk, VA 23517, US y
CUPRON, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

TRINDER II, KENNETH GAUTHIER y
KANMUKHLA, VIKRAM

74 Agente/Representante:

BALLESTER INTELLECTUAL PROPERTY S.L.P.U

ES 2 894 756 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

Proceso para la preparación de superficies sólidas antimicrobianas

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere a un proceso de vertido continuo para la fabricación de un material sólido estructural compuesto que comprende una resina termoendurecible y partículas de óxido de cobre dispersadas en la misma de manera sustancialmente uniforme.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Los microbios (bacterias, hongos, virus y esporas) forman parte de nuestra vida diaria y se encuentran en casi todas las superficies duras. Dado que las bacterias, los hongos, los virus y las esporas pueden persistir en la mayoría de las superficies duras, especialmente si hay incluso una pequeña cantidad de humedad, durante periodos de tiempo variables, dichas superficies se convierten en un reservorio de infección, y puede producirse la transmisión a un huésped en contacto con la superficie. A menos que una superficie sea tratada específicamente con un agente antimicrobiano, las bacterias, los hongos y los virus, especialmente si la superficie está húmeda, tienen la posibilidad de establecerse en la superficie dura. Dichas superficies proporcionan una entrada al huésped por parte de los microorganismos patógenos, lo que puede repercutir negativamente en la morbilidad y la mortalidad.

[0003] Un medio para erradicar o disminuir la exposición por contacto a los microbios presentes en las superficies sólidas es incorporar un compuesto antimicrobiano dentro de la superficie sólida o sobre ella. Los compuestos que liberan iones de cobre, como el óxido de cobre, son conocidos por ser agentes microcidas muy eficaces, habiendo demostrado ser altamente efectivos contra bacterias, hongos y virus [Gabbay, *et al.* (2002) The FASEB Journal express article 10.1096/jf.04-2029fje. Publicado en línea el 2 de septiembre de 2004].

[0004] En la mayoría de los casos, la cantidad de óxidos metálicos que puede incorporarse a un polímero es limitada (US 2004/0247653) debido a la naturaleza interferente de los óxidos metálicos en la interrupción de los mecanismos de enlace cruzado y de unión química, necesarios para la creación de los paneles poliméricos de superficie sólida y del material de plancha. Puesto que la actividad antimicrobiana está relacionada proporcionalmente con la carga de óxido de cobre, esta limitación ha repercutido en el desarrollo práctico de materiales de superficie dura antimicrobianos que contienen óxido de cobre.

[0005] Las encimeras fabricadas con cobre y sus aleaciones son eficaces para controlar la carga microbiana en una superficie dura de la encimera, como se demuestra en «Sustained Reduction of Microbial Burden on Common Hospital Surfaces through Introduction of Copper» [Michael G Schmidt, Hubert H Attaway, Peter A Sharpe, Joseph John Jr, Kent A Sepkowitz, Andrew Morgan, Sarah E Fairey, Susan Singh, Lisa L Steed, J Robert Cantey, Katherine D Freeman, Harold T Michels y Cassandra D Salgado. *J Clin- Microbiol* julio 2012 vol. 50 n.º 7, 2217-2223. Publicado antes de la impresión 2 de mayo de 2012, doi: 10.1128/JCM.01032-12].

[0006] Sin embargo, el cobre y sus aleaciones son caros y su incorporación es técnicamente difícil y costosa. Además, en muchos casos una superficie metálica dura puede ser a menudo poco atractiva debido a las manchas de oxidación, así como difícil de mantener estéticamente.

[0007] El efecto de los mecanismos de eliminación iónica está bien documentado. Se ha demostrado que el óxido de cobre es un agente antimicrobiano eficaz [*Current Medicinal Chemistry*, 2005, 12, 2163-2175 2163 0929-8673/05 2005 Bentham Science Publishers Ltd. «Copper as a Biocidal Tool» Gadi Borkow* y Jeffrey Gabbay].

[0008] También se hace referencia en el presente documento a la información dada a conocer en US2004/247653 A1; US2012/171276 A1; US5997829A; Guo *et al.*, *Composites Science and Technology*, 2007, 67(10), 2036-2044; Rodríguez-Llamazares S *et al*, *J Chil Chem Soc*, 2012, 57(2), 1163-1165; yUS2008/193496 A1.

[0009] Aunque anteriormente se sabía que la incorporación de cobre dentro de los materiales sólidos estructurales compuestos imparte actividad antimicrobiana a los mismos, y, en particular, aunque se sabía que el óxido de cobre es un agente antimicrobiano eficaz, los materiales sólidos estructurales compuestos estaban limitados hasta la fecha en el sentido de que la carga de más del 10 % p/p de partículas que contienen cobre dentro de dichos materiales no era alcanzable.

SUMARIO DE LA INVENCION

[0010] Esta invención proporciona un proceso para la fabricación de materiales sólidos estructurales compuestos con alta carga de óxido de cobre que son biocidas.

[0011] La presente invención, en algunos modos de realización, proporciona altas cargas de compuestos de cobre, así como un sistema para su incorporación para proporcionar un rendimiento antimicrobiano altamente eficaz en una superficie dura creada sintéticamente, manteniendo al mismo tiempo un aspecto estético del producto y manteniendo la resistencia del producto con la trabajabilidad para fabricar productos que se benefician de las propiedades biocidas. Puesto que existe una relación directa entre la eficacia microcida y los niveles de carga, pero dado que los niveles de carga elevados pueden afectar negativamente a las cualidades del producto, sorprendentemente se han superado estos

hallazgos contradictorios y se presenta un producto y un proceso que incorporan altos niveles de carga de partículas de cobre, en un producto que posee integridad estructural y una apariencia satisfactoria.

[0012] Por lo tanto, la presente invención proporciona un proceso de vertido continuo según se define en la reivindicación 1, para la fabricación de un material sólido estructural compuesto según se define en la reivindicación 1.

5 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0013]

La figura 1 representa una fotografía de dos materiales sólidos estructurales compuestos implementados que contienen óxido de cobre y una mezcla de resina de poliéster y acrílica y dos pigmentos diferentes.

10 La figura 2 representa la actividad biocida de un material sólido estructural compuesto implementado de la presente exposición. La figura 2A muestra la actividad antimicrobiana de un material sólido estructural compuesto implementado de la presente exposición contra bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y actividad fúngica. La figura 2B muestra la actividad esporicida de un material sólido estructural compuesto implementado de la presente exposición contra las esporas de *C. difficile*. La figura 2 C muestra la actividad antibacteriana de otro material sólido estructural compuesto implementado de la presente exposición.

15 La figura 3 representa un diagrama de bloques de un proceso implementado para producir un material sólido estructural compuesto implementado de la presente exposición. Según el aspecto descrito en esta figura, se prepara una mezcla maestra que contiene resina polimérica, óxido cuproso, óxido cúprico o una combinación de los mismos y pigmentos. Los materiales se mezclan y se extruyen a alta temperatura para producir pellets de mezcla maestra, cuya concentración de óxido de cobre se verifica. A continuación, los pellets de resina polimérica que contienen óxido de
20 cobre se dimensionan y clasifican antes de añadirlos a la resina polimérica con catalizador y más pigmentos orgánicos e inorgánicos. En esta fase, el óxido de cobre puede incluirse como polvo o en los pellets de mezcla maestra o una combinación de ambos a la resina polimérica y el catalizador. Estos materiales se mezclan opcionalmente bajo presión en un vacío y la mezcla se extruye y se moldea y se vacía en una superficie dura, antes de ser curada entre 20 °C y 90 °C. A continuación, se comprueba la composición y el color de la superficie dura antes de darle un acabado y pulirla
25 mediante un proceso de lijado en húmedo con grano 40-220 y así se ha producido un panel sólido polimérico.

Las figuras 4A, 4B, 4C y 4D representan una serie de micrografías electrónicas de barrido, que representan la distribución uniforme de las partículas de cobre a través de un material sólido compuesto implementado de la presente exposición. Las figuras 4A y 4B muestran imágenes representativas de una superficie superior del material sólido compuesto implementado de la presente exposición y las figuras 4C y 4D muestran imágenes representativas de una
30 superficie inferior de un material sólido compuesto implementado de la presente exposición. La figura 4E proporciona resultados de EDE, que confirman que las partículas vistas en las micrografías son partículas de cobre.

La figura 5 es un diagrama de bloques que describe un proceso continuo implementado.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

35 **[0014]** Los métodos de la presente invención, que producen un material sólido estructural compuesto, se caracterizan por que el material exhibe una carga mejorada de óxido de cobre del 15 % al 50 % p/p, sin comprometer su integridad estructural, por ejemplo, la dureza o la uniformidad de la textura.

[0015] Como se ha demostrado en el presente documento, de acuerdo con algunos métodos implementados de la presente invención, tales materiales o materiales producidos de este modo, exhiben una actividad microbiocida rápida y eficaz, que encontrará aplicación contra una multitud de microbios, incluyendo bacterias y hongos, incluyendo esporas, y
40 virus. De hecho, como se demuestra en el presente documento, cuando un material sólido preparado según los Ejemplos descritos en el presente documento se puso en contacto con bacterias grampositivas, bacterias gramnegativas y especies fúngicas, como se muestra en la figura 2, se evidenció una reducción del 99,9 % en el recuento de microbios en un plazo de 2 horas y una reducción del 90 % en el recuento de esporas en un plazo de 24 horas.

45 **[0016]** De este modo, la presente invención proporciona un método para proporcionar materiales sólidos estructurales compuestos con altas cargas de óxido de cobre, según se describe en el presente documento.

[0017] El proceso de la presente invención proporciona un material sólido estructural compuesto que comprende una resina termoendurecible y partículas de óxido de cobre dispersadas uniformemente en el mismo, que además comprende el relleno, en el que dicho óxido de cobre está presente en una concentración que oscila entre el 15 % y el 50 % p/p y en el que una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas en la superficie.

50 **[0018]** En algunos modos de realización, tales procesos y materiales producidos de este modo pueden hacer uso de una mezcla maestra que contenga cobre según se describe en el presente documento. En algunos modos de realización, la mezcla maestra está preparada/compuesta por materiales como los descritos en la solicitud internacional PCT número de publicación WO 2006/100665.

55 **[0019]** En algunos modos de realización, el proceso de la presente invención proporciona un producto acabado que comprende un material sólido estructural compuesto según se describe en el presente documento.

[0020] En algunos modos de realización, el proceso de la presente invención proporciona un producto acabado que comprende un aglutinante líquido estructural compuesto descrito en el presente documento que puede incorporarse a laminaciones estructurales, pulverizarse o pintarse sobre una superficie y se endurecerá para proporcionar una superficie antimicrobiana.

5 **[0021]** El material sólido estructural compuesto puede ser un mármol artificial o sintético. Los términos «mármol artificial o sintético» pueden referirse a un material utilizado en productos de construcción, que puede sustituir a las superficies normalmente hechas de piedra de mármol extraída, cortada y pulida. Debe entenderse que el término incluye, entre otras cosas, cualquier superficie sólida para su aplicación en un entorno en el que se desee una superficie dura.

10 **[0022]** Los materiales sólidos estructurales compuestos, incluidos los mármoles artificiales descritos en el presente documento, pueden comprender mármol, ónix y otros materiales de superficie sólida, revestimiento de cuarzo y piedra aglomerada, que están presentes como parte de una matriz de resina, que en algunos modos de realización puede comprender además un relleno.

15 **[0023]** El uso del mármol cultivado, tal como se contempla en el presente documento, puede incluir el uso de un revestimiento de gel de poliéster no saturado sin relleno sobre un sustrato de poliéster no saturado con relleno. El relleno, en algunas realizaciones, puede comprender carbonato de calcio o materiales similares, como apreciará el artesano experto.

[0024] El uso de ónix como se contempla en el presente documento puede incluir el uso de una capa de gel de poliéster insaturado sin relleno sobre un sustrato de poliéster insaturado relleno. El relleno puede comprender trihidrato de alúmina.

20 **[0025]** Los materiales sólidos estructurales compuestos de la presente exposición pueden comprender material de resina con relleno y, a diferencia del ónix o el mármol cultivado, pueden no comprender una capa de gel.

25 **[0026]** Los materiales sólidos estructurales compuestos de la presente exposición pueden hacer uso de un material de superficie sólida Corian® (E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, Del.), que comprende una matriz acrílica rellena de trihidrato de alúmina, que se modifica además como se describe en el presente documento para que incorpore partículas de óxido de cobre uniformemente dispersas en la misma en una concentración que oscila entre el 15 % y el 50 % p/p y en la que una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas en la superficie.

30 **[0027]** Los materiales sólidos estructurales compuestos de la presente exposición pueden hacer uso de un material de superficie de cuarzo, como un material de Silestone, Ceasarstone, o Zodiaq®, (E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, Del.), que comprende una matriz de poliéster insaturada acrílica rellena de cuarzo u otros rellenos, que se modifica además como se describe en el presente documento para que incorpore partículas de óxido de cobre uniformemente dispersas en la misma en una concentración que oscila entre el 15 % y el 50 % p/p y en la que una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas en la superficie.

[0028] Los materiales sólidos estructurales compuestos producidos mediante el proceso de la presente invención comprenden una resina termoendurecible.

35 **[0029]** En algunos modos de realización de la exposición, la resina está hecha de un jarabe que comprende un polímero del grupo acrílico disuelto en un material seleccionado del grupo de una solución de monómero del grupo acrílico y una solución de monómero mixta que contiene un monómero de vinilo para copolimerizar con un monómero del grupo acrílico como componente principal; el relleno es trihidrato de alúmina; y el agente antimicrobiano comprende óxido de cobre.

40 **[0030]** Los materiales sólidos estructurales compuestos pueden denominarse en el presente documento de forma sinónima como «matriz de resina» o «matriz». El término «matriz», tal como se utiliza en el presente documento, se entenderá que incluye la referencia a un componente de resina polimérica en el que pueden dispersarse cargas y otros aditivos.

[0031] Las resinas termoestables incluyen las resinas fenólicas, las resinas amínicas, las resinas de poliéster no saturado, las resinas epoxi, los poliuretanos y los polímeros de silicona. ABS, SAN, ASA.

45 **[0032]** Las resinas epoxi pueden comprender cualquier resina epoxi conocida en la técnica para la aplicación prevista, por ejemplo, sin carácter limitativo, dichas resinas epoxi pueden incluir bisfenol tipo A, bisfenol tipo F, fenol tipo novolak, epoxi alicíclico, epoxi halogenado y resinas epoxi cicloalifáticas.

50 **[0033]** Las resinas poliméricas pueden incluir resinas de poliéster no saturado, que a su vez pueden incluir resinas de poliéster no saturado caracterizadas por que su reactividad se basa en la presencia de enlaces dobles o triples en los átomos de carbono. El componente acrílico se añade a la resina de poliéster en una proporción del 5 % en peso en la mezcla actual, que también incluiría poliestireno, metilmetacrilato (MMA) o combinaciones de poli(estireno)/MMA.

[0034] Puede incorporarse un aditivo que contribuya al curado/reticulación de las unidades monoméricas de la resina y catalizadores para afectar a la misma.

55 **[0035]** En algunos modos de realización, la invención contempla el uso de catalizadores de longitud cero, o en algunos modos de realización, el catalizador no es de longitud cero y debe considerarse como parte de las matrices poliméricas de la presente exposición.

- [0036]** En la presente exposición, las resinas poliméricas pueden incluir resinas acrílicas, que a su vez pueden comprender cualquier resina acrílica conocida, incluyendo algunos ejemplos no limitativos varios tipos de monómeros convencionales del grupo acrílico, polímeros parciales del grupo acrílico, monómeros vinílicos para copolimerización distintos de los monómeros del grupo acrílico o polímeros parciales. En la presente exposición, dichos polímeros acrílicos pueden ser ésteres (met)acrílicos. Tal como se utiliza en el presente documento, "(met)acrílico" se entiende como «acrílico y/o metacrílico». Los ejemplos de ésteres (met)acrílicos incluyen el éster (met)acrílico de metilo, el éster (met)acrílico de etilo, el éster (met)acrílico de bencilo y el éster (met)acrílico de glicidilo.
- [0037]** En la presente exposición, las resinas acrílicas pueden comprender una superficie sólida como Corian®, que incluye una resina de poli(metilmetakrilato) (PMMA) con un relleno de ATH, como se ha descrito anteriormente, y en la presente exposición las resinas poliméricas de la presente invención pueden comprender una superficie de cuarzo como el material Zodiaq®, que compromete una resina de poliéster no saturado (UPE, por sus siglas en inglés) con un relleno de cuarzo u otra sílice. En la presente exposición, el material sólido estructural compuesto que comprende resinas poliméricas según este aspecto puede contener además pigmentos, material propio rectificado en forma de partículas y otros aditivos como se da a conocer en las patentes estadounidenses n.º 3,847, 865 y 4,085,246.
- [0038]** Los materiales sólidos estructurales compuestos producidos mediante el proceso de la presente invención comprenden además un relleno, que a su vez puede comprender cualquier material de relleno conocido, como entenderá el experto en la materia. Ejemplos no limitativos de dicho material de relleno pueden incluir cuarzo, polvo de cuarzo, polvo de sílice, polvo de piedra, fragmentos de vidrio rotos, carbonato de calcio, talco, trihidrato de aluminio y aditivos de agentes tixotrópicos, como sílice pirógena, y arcillas orgánicas, y otros como entenderá el experto en la materia. En algunos modos de realización, la cantidad de relleno frente a la resina polimérica incorporada dentro de los materiales sólidos estructurales compuestos producidos de conformidad con la presente invención será proporcional a las aplicaciones particulares para el material que se está produciendo, como entenderá el experto en la materia.
- [0039]** La resina polimérica comprende resinas epoxi, acrílicas o de poliéster y la resina polimérica comprende resinas termoendurecibles en combinación con resinas termoplásticas. El material sólido estructural compuesto comprende, además, carbonato de calcio, mármol, granito, cuarzo, feldespato, mármol y cuarcita y mezclas de los mismos.
- [0040]** El material sólido estructural compuesto puede comprender además otro material de relleno, tal como se describe en el presente documento, cuyo material de relleno comprende sílice pirógena, arena, arcilla, cenizas volantes, cemento, cerámica rota, mica, escamas de silicato, vidrio roto, perlas de vidrio, esferas de vidrio, fragmentos de espejo, granalla de acero, granalla de aluminio, carburos, perlas de plástico, caucho peletizado, compuestos poliméricos molidos, virutas de madera, serrín, laminados de papel, pigmentos, colorantes y mezclas de los mismos.
- [0041]** El relleno de ATH puede constituir hasta entre un 10 % y un 30 % en peso de la composición total.
- [0042]** El polvo de ATH y/o de cuarzo (sílice) para el método de compactación (material muy duro) puede suponer del 20 % al 70 %.
- [0043]** El espesante (sílice pirógena) puede ser del 5 % al 30 % para la aplicación pulverizable/pintable.
- [0044]** Los materiales sólidos estructurales compuestos comprenderán partículas de óxido de cobre dispersadas uniformemente en los mismos, presentes en una concentración que oscila entre el 15 % y el 50 % p/p.
- [0045]** Una parte de dichas partículas de óxido de cobre está expuesta en la superficie.
- [0046]** En algunos modos de realización, en función del proceso de preparación de los materiales sólidos estructurales compuestos, las partículas de óxido de cobre se incorporan de manera que las partículas de óxido de cobre no experimentan ninguna interacción química con los compuestos de una preparación de suspensión utilizada en la preparación de los materiales sólidos estructurales compuestos debido a un pretratamiento del polvo de un silicato, PMMA, cera de poliéster u otro material encapsulante.
- [0047]** Las partículas de óxido de cobre se dispersan uniformemente en las matrices de resina como se describe en el presente documento.
- [0048]** La dispersión uniforme de las partículas de óxido de cobre antimicrobianas imparte una actividad biocida o bioestática uniforme por toda la masa del material del panel polimérico de superficie sólida y no sólo en la superficie del material del panel polimérico de superficie sólida.
- [0049]** Dichas características antimicrobianas distribuidas uniformemente y dispersadas por todo el material sólido son particularmente útiles cuando se abordan las imperfecciones de la superficie de algunos de los materiales de paneles poliméricos de superficie sólida elegidos introducidos con el uso a lo largo del tiempo, por ejemplo, mediante el raspado de una o más superficies de las capas superiores, lo que hasta la fecha, con otros materiales tratados en la superficie, daría lugar a una superficie que ya no se caracteriza por la actividad antimicrobiana. El hecho de que las partículas de óxido de cobre se distribuyan de manera uniforme para dispersarse por todo el material sólido permite eliminar una o más capas superficiales y, al mismo tiempo, proporcionar una superficie expuesta nueva y limpia que sigue caracterizándose por una actividad antimicrobiana eficaz.

[0050] Las partículas de óxido de cobre están presentes en una cantidad que imparte actividad antimicrobiana al material sólido estructural compuesto, de manera que dicha actividad se determina fácilmente en una superficie expuesta del material cuando entra en contacto con una especie microbiana.

5 **[0051]** Dicha eficacia antimicrobiana puede proporcionar una actividad microbicida o microbioestática, que por ejemplo, puede proporcionar una reducción de 3 log en el recuento de microbios, en 2 horas de exposición, o por ejemplo, puede proporcionar una reducción de más del 90 % en el recuento de esporas, después de la exposición a los materiales sólidos estructurales compuestos, como se demuestra mediante los resultados obtenidos con una «Prueba de superficie dura antimicrobiana» y una «Prueba de frotamiento de superficie dura antimicrobiana» como se describe en el presente documento.

10 **[0052]** Sin estar limitado por la teoría, según este aspecto, la eficacia antimicrobiana impartida por las partículas de óxido de cobre incorporadas dentro de los materiales según se describe en el presente documento puede deberse a la liberación de iones de cobre en el medio expuesto. Mientras que el modo preferido de eficacia es a través de un puente de agua o vapor, se ha encontrado sorprendentemente que incluso en lo que parece ser una superficie seca hay eficacia, que posiblemente se deba al agua de los propios microbios.

15 **[0053]** Las partículas de óxido de cobre pueden tener un tamaño que oscila entre 0,1 y 20 µm (micras), por ejemplo, que oscila entre 1 y 20 µm (micras), por ejemplo, que oscila entre 5 y 20 µm (micras), por ejemplo, que oscila entre 5 y 10 µm (micras) y siguen teniendo el mismo tamaño después de la formación del material solidificado.

20 **[0054]** Los «materiales sólidos estructurales compuestos» de la presente exposición pueden incluir compuestos no porosos de rellenos minerales finamente divididos dispersados en una matriz de polímero orgánico. El término «matriz de polímero orgánico» puede ser sinónimo de «matriz» de resina.

[0055] La presente exposición proporciona un producto acabado que comprende un material sólido estructural compuesto como el descrito en el presente documento.

25 **[0056]** Dicho producto acabado puede comprender una mesa, una encimera, revestimientos y molduras arquitectónicas, pasarelas, acabados para el hogar, muebles de patio, muebles de hospital, accesorios para camas de hospital, tiradores, piedra decorativa, baldosas para interiores y exteriores, revestimiento de suelos, cobertores, revestimientos de paredes tanto de láminas como decorativo (pintura), accesorios de baño, estructuras de imitación de piedra, estructuras fundidas y moldeadas, para la incorporación del material sólido estructural compuesto en ellas.

30 **[0057]** Algunos productos acabados contemplados pueden incluir encimeras de baño, lavabos, cabinas de ducha, paneles de suelo, paneles de pared y molduras, y encimeras de cocina y baldosas de suelo, así como otras superficies funcionales y/o decorativas. Algunos productos acabados contemplados pueden incluir muebles, materiales de revestimiento y pequeños artículos fijos. Algunos productos acabados contemplados pueden incluir cualquier superficie que se encuentre en entornos sanitarios, donde la incidencia de la exposición a microorganismos patógenos puede ser mayor. Según este aspecto, algunos productos acabados contemplados pueden incluir cualquier superficie que se encuentre en hospitales, centros de cuidados paliativos, residencias de ancianos, consultas de médicos u otros terapeutas sanitarios, así como en instalaciones comerciales y residenciales de preparación de alimentos.

[0058] Algunos productos acabados contemplados pueden incluir cualquier superficie con la que se pueda entrar en contacto como parte de un régimen para garantizar la higiene personal, como las instalaciones del baño.

40 **[0059]** Los productos acabados de la presente exposición pueden incluir materiales útiles para superficies sólidas decorativas como, por ejemplo, las utilizadas como productos de construcción, como encimeras de baño, lavabos, baldosas del suelo, cabinas de ducha y encimeras de cocina. Los muebles, el uso sanitario, los materiales de revestimiento y diversos artículos, como el material de oficina y los accesorios de las tiendas, también se pueden considerar materiales acabados, así como un laminado u otro material que comprenda un revestimiento muy fino del material sólido estructural compuesto.

45 **[0060]** Dichos productos acabados también pueden comprender superficies en baños domésticos, baños públicos, áreas de piscinas, residencias, estadios e instalaciones deportivas: lavabos, encimeras, paredes y bases de duchas, baldosas del suelo y otras paredes que se mojan durante su uso. Dichos productos acabados también pueden comprender superficies en instalaciones de atención médica, como hospitales, clínicas, ambulancias y residencias de ancianos, la presente exposición proporciona protección antimicrobiana en forma de superficies para encimeras, lavabos, paredes y bases de duchas, baldosas de suelo y protectores contra salpicaduras en, por ejemplo, habitaciones de pacientes, lavanderías, zonas de ropa sucia, zonas de personal y visitantes, unidades de cuidados intensivos y de cuidados coronarios y pasillos.

50 **[0061]** Los productos acabados y/o los materiales sólidos estructurales compuestos de la presente exposición también pueden tener aplicación para ofrecer una protección antimicrobiana cuando haya un contacto tanto directo como indirecto de los alimentos con los mismos. Algunos ejemplos son: encimeras, fregaderos, protectores contra salpicaduras, suelos y mesas en las cocinas; encimeras, mostradores y protectores de bufets de ensaladas, zonas de retraso de alimentos, zonas de platos sucios y zonas de lavado y secado de platos en restaurantes y establecimientos de comida rápida; determinadas zonas en mataderos en las que la carga de nutrientes no es excesiva; zonas de mesas, encimeras, suelos y protectores contra salpicaduras en instalaciones de enlatado, congelación, envasado de carnes rojas y producción de

pan y pastelería; y encimeras, expositores y otros accesorios para comestibles y alimentos frescos en una tienda de comestibles.

[0062] Los materiales sólidos estructurales compuestos de la presente exposición son útiles para inhibir y destruir muchos microorganismos nocivos comunes que se encuentran en el hogar, la atención sanitaria y el entorno de preparación de alimentos. Los microorganismos que se encuentran comúnmente en dichos entornos, por ejemplo, cuando dichos entornos permanecen empapados, húmedos o mojados, incluyen bacterias, levaduras, hongos y virus. Los ejemplos incluyen, sin carácter limitativo, varias bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos y virus, incluyendo, sin carácter limitativo, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria weshimeri* y *Klebsiella pneumonia*.

[0063] El material sólido estructural compuesto puede vaciarse en forma de lámina. El material sólido estructural compuesto puede vaciarse mediante un proceso de moldeo por compresión. El material sólido estructural compuesto puede vaciarse mediante un proceso de extrusión. El material sólido estructural compuesto puede vaciarse mediante un proceso de moldeo por inyección.

[0064] El material sólido estructural compuesto puede prepararse primero como una mezcla viscosa en la que el polvo de óxido de cobre se encuentra en última instancia en suspensión, que cuando se pulveriza o se aplica, tras la evaporación del disolvente, proporcionará una película sólida endurecida sobre una superficie a la que se aplicó la pulverización/formulación. Dicha aplicación puede dar lugar a una película multicapa, que se caracteriza por que dicha película comprende una resina polimérica y partículas de óxido de cobre dispersadas uniformemente en la misma, en la que dicho óxido de cobre está presente en una concentración que oscila entre el 15 % y el 50 % p/p y en la que una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas en la superficie.

[0065] Debe entenderse que los materiales sólidos estructurales compuestos producidos mediante el proceso de la presente invención comprenden partículas de óxido de cobre dispersadas uniformemente en los mismos, donde el óxido de cobre está presente en una concentración que oscila entre el 15 % y el 50 % p/p, o en algunos modos de realización, en una concentración que oscila entre el 15 % y el 40 % p/p, o en algunos modos de realización, en una concentración que oscila entre el 15 % y el 30 % p/p, y donde una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas en la superficie.

[0066] La presente invención proporciona un proceso de vertido continuo para la fabricación de un material sólido estructural compuesto que comprende una resina termoendurecible y partículas de óxido de cobre dispersadas en la misma de manera uniforme, comprendiendo el proceso las etapas de:

mezclar un relleno con óxido de cobre hasta que esté bien mezclado para formar una mezcla de relleno y óxido de cobre;

de forma gradual, posteriormente mezclar dicha mezcla de relleno y óxido de cobre con una resina termoendurecible y opcionalmente un pigmento para formar una composición mezclada que contenga óxido de cobre;

de forma gradual, posteriormente mezclar un catalizador con dicha composición mezclada que contiene óxido de cobre para formar un material estructural compuesto polimerizable;

distribuir dicho material estructural compuesto polimerizable en un molde; y

proporcionar condiciones para la polimerización de dicho material estructural compuesto polimerizable,

preparar de esta manera el material estructural compuesto donde el óxido de cobre está presente a una concentración que oscila entre 15 % y 50 % p/p y donde una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas en la superficie.

[0067] El polvo de óxido de cobre puede comprender Cu_2O , o el polvo de óxido de cobre puede comprender CuO , o el polvo de óxido de cobre puede comprender mezclas de los mismos. En el modo de realización preferido, el tamaño puede variar y el proceso puede tomar tamaños de partícula de hasta 20 μm (micras) con un tamaño previsto de entre 5 y 10 μm (micras). En algunos modos de realización, se contemplan los tamaños de partícula de 0,1 μm a 20 μm (micras).

[0068] Además se muestra un sistema para la entrada del óxido de cobre en el material que permite el moldeo y vaciado del material retrasando la solidificación que es causada tanto por el catalizador del compuesto como por el óxido de cobre. En circunstancias normales, tanto el catalizador como el óxido de cobre por sí solos provocarían una solidificación casi instantánea de la mezcla, pero sorprendentemente se descubrió que cuando el catalizador y el óxido de cobre se mezclaban como último paso o cuando el óxido de cobre se añadía como ingrediente final, o cuando se formaba una mezcla de óxido de cobre y relleno o una pasta de óxido de cobre y resina, la solidificación se retrasaba.

[0069] Se descubrió sorprendentemente que la manipulación de etapas específicas del proceso de preparación de los materiales compuestos podría repercutir significativamente en la capacidad de llegar a una distribución uniforme y una producción optimizada de los materiales sólidos compuestos como se describe en el presente documento.

[0070] Además, se descubrió sorprendentemente que el catalizador podía añadirse al principio del proceso de mezclado y el óxido de cobre podía añadirse en la última fase del mezclado, y que ese orden también retrasaba la solidificación.

[0071] Se descubrió que el óxido de cobre, cuando se añadía como última etapa del proceso, provocaba un retraso en la solidificación de la suspensión y que, siempre que el óxido de cobre se añadiera en una fase final, se producía un retraso en la solidificación que permitía su aplicación para usos finales, como una aplicación por pulverización.

5 **[0072]** Una superficie expuesta de dicho material sólido estructural compuesto puede tener una actividad de reducción antimicrobiana que representa una reducción del 90 % de las unidades microbianas en 24 horas de incubación de la muestra.

[0073] Una superficie expuesta de dicho material sólido estructural compuesto puede caracterizarse por su capacidad de ser expuesta repetidamente al ataque de organismos a la vez que mantiene dicha actividad de reducción antimicrobiana durante un período de tiempo dentro de dichas 24 horas de incubación de la muestra.

10 **[0074]** En algunos modos de realización, la actividad antimicrobiana representa una actividad bactericida, esporicida o bacteriostática y en algunos modos de realización, la actividad antimicrobiana representa una actividad fungicida, virulicida, fungistática o virustática.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1 (REFERENCIA)

15 **Métodos para producir materiales sólidos estructurales compuestos que contienen cobre: proceso de mezcla por lotes**

[0075] Para la preparación de un material sólido polimérico, pueden utilizarse los siguientes ingredientes: trihidrato de alúmina (ATH), pigmentos, resina y catalizador de peróxido de metiletilcetona (MEKP). El proceso puede ser el siguiente:

1. El ATH y los rellenos se mezclaron en un recipiente seco.

2. A continuación, se añadieron la resina y los pigmentos y se mezclaron bien.

20 3. A continuación, se mezcló el catalizador MEKP en el contenido de los puntos 1 y 2 anteriores y se mezcló bien.

4. La suspensión mezclada se añadió a un molde.

5. El molde se colocó en una cámara de vacío, preferiblemente con una acción de vibración para eliminar las burbujas de aire atrapadas en la suspensión, que comenzó a solidificarse en cuestión de minutos. Un tiempo normal de solidificación inicial fue de 15 a 30 minutos.

25 6. El producto o plancha de superficie sólida se colocó en un horno de curado a 80 C durante 30 a 45 minutos.

7. El producto o plancha de superficie sólida se retiró y se preparó para el calibrado y el lijado de acabado.

[0076] Cuando el experto desea incluir el óxido de cobre en el material polimérico de partida, por ejemplo, resulta evidente para el experto que el proceso normal incluiría el uso de los siguientes ingredientes: ATH, mezcla maestra de PET, polvo de óxido de cobre, pigmentos, resinas y catalizador MEKP, por lo que el proceso implica mezclar minuciosamente todos los ingredientes distintos de MEKP, esto es, ATH, mezcla maestra de PET, polvo de óxido de cobre, pigmentos y resinas. El experto añadiría convencionalmente catalizador MEKP y mezclaría los ingredientes combinados minuciosamente justo antes del vaciado de la mezcla en un molde.

[0077] Sin embargo, cuando se llevó a cabo el proceso anteriormente indicado, sorprendentemente, cuando se añadió MEKP y se mezcló en la mezcla tras haber mezclado los ingredientes secos, pigmentos y resina, se continuó con la adición de óxido de cobre. Cuando se añadió el polvo en la mezcla durante la formulación normal para la preparación de una superficie sólida, que fue en el momento de la mezcla de materiales secos, y a continuación se mezcló la resina con los materiales secos y, por último, se añadiría el MEKP como última etapa, tras la adición del MEKP a la mezcla pastosa final tuvo lugar casi una solidificación instantánea, esto es, la mezcla resultante se solidificó prematuramente, para que se obtuviera una preparación semidura irregular, que no podría vaciarse fácilmente. Dicha solidificación prematura fue más pronunciada cuando se proporcionó el polvo de óxido de cobre en una concentración p/p de tan solo el 2 %. Incluso un nivel del 2 % resultó en una aceleración del proceso de solidificación, y cuanto mayor fue la concentración, más rápido se produjo el proceso de solidificación.

[0078] Como se ha indicado anteriormente, cuando se añadió el polvo en cantidades tan pequeñas como una relación de 3 % p/p, se aceleró la solidificación prematuramente. Las proporciones cambiaron conforme aumentó el nivel de polvo de cobre, ya que esto implicaría una reducción de la mezcla maestra de acuerdo con el aumento de la cantidad de polvo para mantener la suficiente mezcla maestra y polvo combinado para mantener la eficacia. Esta formulación se ejecutó a niveles de (1) 3,75 % de polvo con 49 % de mezcla maestra (2) 4,75 % de polvo con 45 % de mezcla maestra (3) 6 % de polvo con 40 % de mezcla maestra (4) 7 % de polvo con 36 % de mezcla maestra (5) 8 % de polvo con 32 % de mezcla maestra (6) 9 % de polvo con 28 % de mezcla maestra (7) 10 % de polvo con 24 % de mezcla maestra. Todas las otras partes de los ingredientes principales mantuvieron las mismas proporciones.

[0079] Inesperadamente, cuando el proceso se llevó a cabo, en cambio, con el siguiente orden, con el que se preparó una mezcla de resina y pigmentos, y se añadió MEKP a la mezcla, y a continuación, se mezclaron con rellenos y mezcla maestra/polvo tratado en la premezcla que contiene MEKP, o se mezcló después óxido de cobre en la premezcla que

contiene MEKP, sorprendentemente, dicha mezcla podría vaciarse fácilmente en un molde, y el proceso podría llevarse a cabo fácilmente, incluso con altas concentraciones de polvos de óxido de cobre incorporados en esta.

[0080] Como se ha demostrado en el presente documento, el endurecimiento de la mezcla se retrasó profundamente en función del orden en que se añadió el MEKP y el óxido de cobre a la mezcla que contiene pigmentos y resina.

5 EJEMPLO 2 (REFERENCIA)

Métodos para producir materiales sólidos estructurales compuestos representados que contienen cobre

[0081] Un proceso representado para producir un material estructural compuesto que contiene cobre de la presente divulgación hace uso de los siguientes ingredientes, y los porcentajes relativos en peso se proporcionan entre paréntesis de acuerdo con lo siguiente: Trihidrato de alúmina (ATH) (7 % al 20 %), mezcla maestra de PET preparada, por ejemplo, como se describe en la solicitud de patente europea número 1860949, que contiene óxido de cobre (hasta un 40 %), polvo de óxido de cobre (hasta un 10 %), pigmentos (hasta un 3 %), resina (entre un 28 y un 40 %), y catalizador MEKP (1 %).

[0082] Un ejemplo de proceso puede incluir las etapas de:

- 1) Mezclar todos los ingredientes secos [trihidrato de alúmina en una relación de 17 % p/p y mezcla maestra en una relación de 40 % p/p], excepto el polvo de óxido de cobre en un primer recipiente.
- 15 2) Mezclar todos los ingredientes líquidos excepto el MEKP [en una relación de 1 % p/p] en un segundo recipiente (recipiente B) [resina y pigmentos en una relación de 2 % p/p].
- 3) Añadir MEKP y mezclar minuciosamente en el recipiente B.
- 4) Añadir todos los ingredientes secos desde el recipiente A en los ingredientes líquidos en el recipiente B y mezclar minuciosamente [añadir trihidrato de alúmina y mezcla maestra del recipiente A virus tática la resina y los pigmentos del recipiente B].
- 20 5) Añadir el óxido de cobre [relación de 6 % p/p] a la mezcla combinada [indicada arriba en la etapa anterior] en el recipiente B y mezclar rápidamente.
- 6) Colocar la mezcla en un molde adecuado expandiendo uniformemente.
- 7) Colocar el molde en una cámara de vibración y presión de vacío.
- 25 8) Iniciar la secuencia de vibración durante de 2 a 10 minutos, iniciar la presión de vacío durante de 5 a 30 minutos.
- 9) Retirar inicialmente la lámina endurecida que permanece en el molde de la cámara de vacío para enfriar y curar a temperatura ambiente durante de 4 a 24 horas.
- 10) Etapa de calentamiento/posterior al curado: este es otro descubrimiento sorprendente y una gran diferencia con lo que esperaría alguien experto en la materia. Se descubrió que el calor era un impedimento para producir láminas de calidad y, por lo tanto, se eliminó.
- 30 11) El curado posterior normal en un horno de las planchas se eliminó, ya que se descubrió que esta etapa evitó sorprendentemente que las planchas obtuvieran la dureza de una plancha normal.
- 12) Calibrar, lijar y pulir la plancha.
- 13) Inspeccionar cualquier defecto.
- 35 14) Empaquetar para su envío y distribución.

[0083] Se descubrió sorprendentemente que, con el uso de una mezcla maestra de PET con un 20 % de óxido de cobre, podría eliminarse una etapa de curado posterior. También se descubrió sorprendentemente que, mediante la adición de polvo de óxido de cobre como última etapa antes del vaciado, se permitió un retraso sorprendente de la solidificación.

[0084] También se descubrió sorprendentemente que, al añadir el MEKP a la resina antes de la adición de rellenos e ingredientes secos, también se retrasó la solidificación.

[0085] Asimismo, cuando el proceso se llevó a cabo en ausencia de acción de vibración aplicada durante el proceso de vacío, el material sólido resultante no dio como resultado bolsas de aire/burbujas de aire, que normalmente estarían presentes.

[0086] El retraso del endurecimiento químico en los procesos representados según se ha descrito en el presente documento, fue consistentemente de entre 20 y 30 minutos, que es el tiempo suficiente para la formación de los productos deseados.

[0087] En un modo de realización, se descubrió que podrían utilizarse 10 µm (micras) de polvo tratado con un silicato o PMMA tras el tratamiento de molienda de polvo en lugar de la mezcla maestra o además de la mezcla maestra para conseguir el mismo efecto. Los expertos en la materia de la síntesis de mezcla maestra saben que los polvos de óxido de cobre pueden tratarse en una mezcladora muy pura con una relación de recubrimiento de aproximadamente 4 gramos de un silicato o PMMA u otro compuesto inerte a un kilo de polvo de óxido de cobre.

EJEMPLO 3 (REFERENCIA)

Los materiales sólidos estructurales compuestos representados que contienen cobre muestran actividad antimicrobiana

Materiales y métodos

A. Preparación de inóculos:

5 **[0088]** Para bacterias: las bacterias de cultivos madre se transfirieron en TSB y se incubaron a 35-37 °C durante 24±2 horas. Se realizaron transferencias a diario durante al menos tres días consecutivos (pero no más de 10 días). Para cada transferencia, se inocularon tubos que contenían 10 ml de TSB utilizando dos asas cargadas (4 mm de diámetro interior) de inóculo para cada tubo. Se utilizó un cultivo de 48±4 horas para los inóculos en el día de la prueba.

10 **[0089]** Para hongos: los hongos de cultivos madre se transfirieron en caldo de dextrosa Sabouraud y se incubaron a 25-30 °C durante 24±2 horas. Se realizaron transferencias a diario durante al menos tres días consecutivos (pero no más de 10 días). Para cada transferencia, se inocularon tubos que contenían 10 ml de SDB utilizando dos asas cargadas (4 mm de diámetro interior) de inóculo para cada tubo. Se utilizó un cultivo de 48±4 horas para los inóculos en el día de la prueba.

[0090] Para ambos cultivos: las transferencias separadas más de 15 días con respecto a los cultivos madre no se utilizaron para los inóculos para la prueba.

15 **[0091]** Para cada microorganismo, cada cultivo se mezcló bien en un mezclador de vórtice y se dejó reposar durante >15 minutos. Los dos tercios superiores de cada cultivo se aspiraron y se utilizaron como inóculo.

[0092] B. Adición de carga orgánica: para cada inóculo preparado, se añadió una alícuota de 0,25 ml de FBS más 0,05 ml de solución Triton X-100 al 0,05 % a 4,70 ml de suspensión de bacterias para obtener una carga de suelo de 5 % FBS y 0,01 % de Triton X-100.

20 C. Preparación del vehículo de prueba y de control:

[0093] Los vehículos/superficies de prueba (tres lotes, cinco réplicas por lote y por microorganismo) y de control (tres réplicas por microorganismo) más superficies adicionales de prueba y control, según lo requerido para los controles restantes, se limpiaron sumergiéndose en 70-85 % en alcohol isopropílico, se enjuagaron con agua desionizada estéril y se dejaron secar al aire. Tras secarse completamente, los vehículos se esterilizaron con vapor durante 15 minutos a 121 °C. Los vehículos se dejaron enfriar y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su uso. Antes de su uso, cada vehículo se transfirió asépticamente a placas de Petri de plástico (una placa por cada vehículo) cubiertas con dos piezas de papel de filtro utilizando pinzas estériles.

D. Inoculación del vehículo:

30 **[0094]** Se transfirió una alícuota de 0,02 ml del inóculo en cada vehículo estéril utilizando una micropipeta calibrada. El inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8") del borde del vehículo. Los vehículos se dejaron secar con tapas entreabiertas durante 20-40 minutos en condiciones ambientales. El período de exposición (tiempo de contacto) empezó justo después del secado.

E. Prueba:

35 **[0095]** Para cada microorganismo por lote, cinco vehículos inoculados y secos se mantuvieron durante el tiempo de exposición (contacto). El tiempo de contacto empezó justo después del secado, de acuerdo con la sección D (inoculación del vehículo). Al final del tiempo de contacto, cada vehículo se transfirió a un frasco que contenía 20 ml de neutralizador a intervalos escalonados. Cada frasco se sometió a sonicación durante cinco minutos y después se giró a mano para mezclarse. En una hora tras la sonicación, se prepararon diluciones en serie utilizando PBS (10⁻¹ - 10⁻⁴). Las alícuotas duplicadas de 1,0 ml de cada frasco/dilución (10⁻¹ - 10⁻⁴) se sembraron utilizando placas de vertido.

40 **[0096]** Para bacterias: las placas se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

[0097] Para hongos: las placas se incubaron durante 48±4 horas a 25-30°C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

PRUEBAS DE ESPORAS

45 **[0098]** Nota: Todas las manipulaciones y la incubación del cultivo de prueba, a no ser que se indique lo contrario, se llevarán a cabo en condiciones anaeróbicas estrictas. Todos los medios y reactivos se reducirán previamente antes de su uso.

A. Preparación de suspensión de esporas:

50 **[0099]** Utilizando un cultivo madre congelado vegetativo descongelado, se añadieron 100 µl en un matraz Erlenmeyer que contenía 10 ml de RCM y se incubaron durante 24±4 horas a 35-37 °C. Las placas CABA se extendieron con el cultivo durante la noche (100 µl/placa) y se incubaron durante 7-10 días a 35-37 °C. Durante el período de incubación, el crecimiento de las placas se comprobó periódicamente para inspeccionar el cultivo y para estimar la proporción aproximada entre esporas y células vegetativas utilizando microscopía de contraste de fases. Se recogió una muestra del

cultivo de crecimiento con un asa de inoculación estéril en un portaobjetos de vidrio que contenía 10 µl de agua desionizada y se mezcló para realizar una suspensión antes de su observación mediante microscopía de contraste de fases. En contraste de fases, las esporas parecían brillantes y ovulares, mientras que las células vegetativas parecían oscuras y con forma de varilla.

5 **[0100]** Una vez que las esporas alcanzaron una relación >90 % entre esporas y células vegetativas, los cultivos se cosecharon de cada placa añadiendo 5±1 ml de ST80 a cada placa y raspando suavemente la superficie de cada placa con un raspador celular para desplazar el crecimiento. El material cosechado se agrupó en un tubo de centrifuga estéril de 50 ml. Los tubos que contenían las suspensiones se centrifugaron a 4500 x g durante 15 minutos y se lavaron tres veces con ST80 frío (2-5 °C). El pellet final en cada tubo se resuspendió en aproximadamente 5 ml de ST80.

10 **[0101]** Cada suspensión de esporas se purificó utilizando procedimientos internos convencionales e incluyeron choques térmicos, lavado utilizando ST80 y una solución al 50 % (p/v) de HistoDenz, y centrifugación con resuspensión usando ST80. Se combinó el contenido de cada tubo. Se recogió una muestra del cultivo con un asa de inoculación estéril en un portaobjetos de vidrio que contenía 10 µl de agua desionizada y se mezcló para realizar una suspensión antes de su observación mediante microscopía de contraste de fases para confirmar la presencia de una relación >90 % entre esporas y células vegetativas.

15 **[0102]** Se realizó una evaluación del recuento de inóculos diluyendo en serie la suspensión preparada usando PBS, y las alícuotas duplicadas se sembraron usando BHIY-HT. Las placas se incubaron durante 2-4 días a 35-37 °C. Se documentarán las UFC/ml. La suspensión de esporas se congeló a aproximadamente -70 °C hasta su uso en el día de la prueba.

20 **[0103]** En el día de la prueba, la suspensión se descongeló y la muestra A del cultivo se recogió con un asa de inoculación estéril en un portaobjetos de vidrio que contenía 10 µl de agua desionizada y se mezcló para realizar una suspensión antes de su observación mediante microscopía de contraste de fases para confirmar la presencia de una relación >90 % entre esporas y células vegetativas.

25 **[0104]** El cultivo se diluyó usando PBS para obtener aproximadamente 5 x 10⁶ UFC/ml en función de los recuentos de inóculos previos a la prueba. El cultivo se mezcló bien en un mezclador de vórtice y se dejó reposar durante >15 minutos. Los dos tercios superiores del cultivo se aspiraron y se utilizaron como inóculo.

B. Adición de carga orgánica:

[0105] Una alícuota de 0,25 ml de FBS más 0,05 ml de solución Triton X-100 al 0,05 % a 4,70 ml de la suspensión de esporas de bacterias para obtener una carga de suelo de 5 % FBS y 0,01 % de Triton X-100.

30 C. Preparación del vehículo de prueba y de control:

[0106] Los vehículos/superficies de prueba (tres réplicas por tiempo de contacto usando dos tiempos de contacto) y de control (dos réplicas por tiempo de contacto) más superficies adicionales de prueba y control, según lo requerido para los controles restantes, se limpiaron sumergiéndolos en 70-85 % en alcohol isopropílico, se enjuagaron con agua desionizada estéril y se dejaron secar al aire.

35 **[0107]** Tras secarse completamente, los vehículos se esterilizaron con vapor durante 15 minutos a 121 °C. Los vehículos se dejaron enfriar y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su uso. Antes de su uso, cada vehículo se transfirió asépticamente a placas de Petri de plástico (una placa por cada vehículo) cubiertas con dos piezas de papel de filtro utilizando pinzas estériles.

D. Inoculación del vehículo:

40 **[0108]** Se transfirió una alícuota de 0,02 ml del inóculo en cada vehículo estéril utilizando una micropipeta calibrada. El inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8") del borde del vehículo. Los vehículos se dejaron secar con tapas entreabiertas durante 20-40 minutos en condiciones ambientales. El período de exposición (tiempo de contacto) empezó justo después del secado.

E. Prueba:

45 **[0109]** Para cada tiempo de contacto, se mantuvieron tres vehículos inoculados y secos durante el tiempo de exposición (contacto). El tiempo de contacto empezó justo después del secado, de acuerdo con la sección D (inoculación del vehículo). Al final del tiempo de contacto, cada vehículo se transfirió a un frasco que contenía 20 ml de neutralizador a intervalos escalonados. Cada frasco se sometió a sonicación durante cinco minutos y después se giró a mano para mezclarse. En una hora tras la sonicación, se prepararon diluciones en serie utilizando PBS. Las alícuotas duplicadas de cada frasco/dilución se sembraron utilizando placas BHIY-HT. Todas las placas se incubaron durante 2-4 días a 35-37 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

50 **[0110]** Protocolo de prueba y resultados: para cada organismo problema, se procesaron tres superficies de prueba (para cada concentración) y dos superficies de control. Usando un cultivo de 48 +/- horas que contiene carga orgánica, las superficies de prueba y de control se contaminaron con 0,02 ml del inóculo, y el inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8 pulgadas) del borde de la superficie. Las superficies se secaron con las tapas entreabiertas durante 40 minutos en condiciones ambientales (20 °C). El tiempo de contacto se inició al final del período de secado.

5 [0111] Al final del tiempo de contacto (2 horas), cada superficie se transfirió a un frasco que contenía 20 ml de neutralizador, y el frasco se sometió a sonicación durante cinco minutos. El frasco se giró a continuación a mano para mezclarse. En una hora, se realizaron diluciones en serie y se sembraron diluciones seleccionadas. Alistair: los métodos de prueba son mucho más extensos que en la descripción; hay una prueba de abrasión repetida (de hasta 12 ciclos de húmedo y seco) y contaminación repetida cada 2 horas durante 24 horas.

[0112] Los microorganismos problema se confirmaron mediante morfología de colonias y tinción de Gram para ser compatibles con *Staphylococcus aureus* y *Enterobacter aerogenes*. Todas las rayas de control de pureza se evaluaron de la misma manera, y ambos microorganismos problema se validaron para ser puros.

[0113] La reducción porcentual se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Control de vehículo cuantitativo promedio (UFC/superficie)} - \text{Resultados de prueba promedio}}{\text{Control de vehículo cuantitativo (UFC/superficie)}} \times 100$$

10 Control de vehículo cuantitativo (UFC/superficie)

EJEMPLO 4 (REFERENCIA)

Materiales sólidos estructurales compuestos representados que contienen cobre

[0114] Usando los siguientes materiales y la descripción, se produjeron planchas de mármol sintético para su aplicación en superficies duras.

15 Ingredientes:

ATH - 7 % a 20 %

Mezcla maestra de PET que contiene óxido de cobre - hasta 40 %

Polvo de óxido de cobre - 10 %

Pigmentos - hasta 3 %

20 Resina - entre 20 - 38 %

Catalizador - 1 %

Proceso:

En un recipiente, mezclar resina y pigmentos juntos

Añadir catalizador

25 Añadir ATH

[0115] Añadir mezcla maestra de PET (como se describe en la solicitud de PCT internacional con número de publicación WO 2006/100665), que se ha molido en un polvo grueso u óxido de cobre que se ha encapsulado con un silicato o PMMA o algún otro material inerte.

Mezclar bien.

30 Vaciar en el molde.

[0116] Colocar el molde en una cámara de vacío y aplicar vacío, presión y vibración. Dejar que la lámina se cure completamente antes de medir y terminar de lijar.

[0117] Usando los siguientes materiales y la descripción, se describe una forma líquida de mármol sintético para su aplicación a cualquier superficie en una aplicación con brocha o espray.

35 Ingredientes:

Sílice pirogénica - 7 % a 20 %

Mezcla maestra de PET que contiene óxido de cobre - hasta 40 %

Polvo de óxido de cobre - hasta 16 %

Pigmentos - hasta 3 %

40 Resina - entre 28 - 75 %

Catalizador MEKP - 1 %

Diluyente MEK de 0 a 10 %

Proceso:

En un recipiente, mezclar resina y pigmentos juntos

Añadir sílice pirogénica

Añadir mezcla maestra de PET, que se ha molido en un polvo grueso u óxido de cobre que se ha encapsulado con un silicato o PMMA o algún otro material inerte

5 Mezclar bien

Añadir MEK hasta alcanzar la viscosidad deseada

Añadir MEKP

Inmediatamente, rociar o pintar la superficie

10 **[0118]** Usando los siguientes materiales y la descripción, se creó una plancha flexible de un mármol sintético para su aplicación, aunque sin carácter limitativo, en baldosas de suelo fáciles de limpiar y silenciosas, molduras flexibles alrededor de columnas y esquinas, amortiguadores resistentes a los impactos, molduras de protección, neumáticos de sillas de ruedas, cintas de barandillas de escaleras mecánicas, cintas transportadoras de procesamiento de alimentos, y más superficies resistentes al rayado.

Ingredientes:

15 ATH - 7 % a 15%

Mezcla maestra de PET que contiene óxido de cobre - hasta 40 %

Polvo de óxido de cobre - 10 %

Pigmentos - hasta 3 %

Resina - entre 25 - 33 %

20 Catalizador MEKP - 0,25 - 1 %

Proceso:

En un recipiente, mezclar resina y pigmentos juntos

Añadir ATH

Añadir MEKP y mezclar bien

25 Añadir catalizador MEKP y mezcla maestra de PET, que se ha molido en un polvo grueso u óxido de cobre que se ha encapsulado con un silicato o PMMA o algún otro material inerte

Mezclar bien

30 **[0119]** En este caso, el contenido de resina se redujo a aproximadamente un 25 %, y el relleno de ATH se incrementó hasta un 15 %; no obstante, estas proporciones pueden cambiar dependiendo de las variaciones en la mezcla maestra, resinas y catalizadores MEKP y las calidades deseadas del producto acabado.

EJEMPLO 5 (REFERENCIA)

Ensayos representados para evaluar la actividad antimicrobiana de los materiales sólidos estructurales compuestos que contienen cobre

Preparación de inóculos:

35 **[0120]** Para *Staphylococcus aureus*: las bacterias de cultivos madre se transfirieron en TSB y se incubaron a 35-37 °C durante 24±2 horas. Se realizaron transferencias a diario durante al menos tres días consecutivos (pero no más de 10 días). Para cada transferencia, se inocularon tubos que contenían 10 ml de TSB utilizando dos asas cargadas (4 mm de diámetro interior) de inóculo para cada tubo. Se utilizó un cultivo de 48±4 horas para los inóculos en el día de la prueba.

40 **[0121]** Para *Enterobacter aerogenes*: las bacterias de cultivos madre se transfirieron en TSB y se incubaron a 25-30 °C durante 24±2 horas. Se realizaron transferencias a diario durante al menos tres días consecutivos (pero no más de 10 días). Para cada transferencia, se inocularon tubos que contenían 10 ml de TSB utilizando dos asas cargadas (4 mm de diámetro interior) de inóculo para cada tubo. Se utilizó un cultivo de 48±4 horas para los inóculos en el día de la prueba.

45 **[0122]** Para cada microorganismo, cada cultivo se mezcló bien en un mezclador de vórtice y se dejó reposar. Los dos tercios superiores de cada cultivo se aspiraron y se utilizaron como inóculo. Las transferencias separadas más de 15 días con respecto a los cultivos madre no se utilizarán para los inóculos para la prueba.

Adición de carga orgánica:

[0123] Para cada inóculo preparado, se añadió una alícuota de 0,25 ml de FBS más 0,05 ml de solución Triton X-100 al 0,05 % a 4,70 ml de suspensión de bacterias para obtener una carga de suelo de 5 % FBS y 0,01 % de Triton X100.

Preparación del vehículo de prueba y de control:

[0124] Las superficies de prueba y de control se limpiaron sumergiéndolas en 70-85 % de alcohol isopropílico, se enjuagaron con agua desionizada estéril y se dejaron secar al aire. Tras secarse completamente, los vehículos se esterilizaron con vapor durante 15 minutos a 121 °C. Los vehículos se dejaron enfriar y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su uso. Antes de su uso, cada vehículo se transfirió asépticamente en placas de Petri de plástico (una placa por cada vehículo) cubiertas con dos piezas de papel de filtro utilizando pinzas estériles.

[0125] Para cada lote del material de prueba, por microorganismo, se prepararon cinco conjuntos con cinco vehículos replicados por conjunto, junto con cinco conjuntos por microorganismo del material de control con tres vehículos replicados, cada uno para los aspectos principales de la prueba.

[0126] Se prepararon superficies adicionales según lo requerido para los controles restantes.

Prueba:

[0127] Todas las superficies de prueba se inocularon a intervalos escalonados con 5 µl del microorganismo problema usando una pipeta calibrada. El inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8") del borde del vehículo. Esta inoculación inicial se consideró como «tiempo cero». Los vehículos se secaron en condiciones ambientales durante la duración de la exposición. El/los período(s) de exposición comienza(n) con la inoculación inicial de «tiempo cero». Los conjuntos aplicables no eliminados para la recuperación cuantitativa (ver abajo) se reinoculaban de la misma manera 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 horas después de la inoculación de «tiempo cero».

[0128] Los conjuntos aplicables para recuperación cuantitativa se retiraron tras 2 (única inoculación), 6 (dos inoculaciones), 12 (cuatro inoculaciones), 18 (seis inoculaciones) y 24 (ocho inoculaciones) horas. Al final del tiempo de contacto aplicable para cada conjunto de superficies, cada vehículo se transfirió a un frasco que contenía 20 ml de neutralizador a intervalos escalonados. Cada frasco se sometió a sonicación durante cinco minutos y después se giró a mano para mezclarse. En una hora tras la sonicación, se prepararon diluciones en serie utilizando PBS (10^{-1} - 10^{-4}). Las alícuotas duplicadas de 1,0 ml de cada frasco/dilución (10^0 - 10^{-4}) se sembraron utilizando placas de vertido de TSA.

[0129] Para *Staphylococcus aureus*: las placas se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

[0130] Para *Enterobacter aerogenes*: las placas se incubaron durante 48±4 horas a 25-30 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

Controles:

Control de cuantificación del vehículo:

[0131] Para cada microorganismo problema, se ejecutó un control paralelo usando los vehículos (superficies) de control de la misma manera que la prueba (inoculación y recuperación cuantitativa), con la excepción de que se evaluaron tres réplicas en lugar de cinco. Todas las placas se incubaron de la misma manera que las placas de prueba, según lo aplicable para cada microorganismo problema.

Control de pureza del cultivo:

[0132] Cada cultivo preparado se estirió para su aislamiento usando TSA. Todas las placas se incubaron de la misma manera que las placas de prueba, según lo aplicable para cada microorganismo problema. Los cultivos aislados se observaron para determinar su pureza.

Control de esterilidad del suelo orgánico:

[0133] Se sembraron alícuotas duplicadas de 1,0 ml del suelo orgánico preparado en placas de vertido de TSA. Las placas se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C, y se observó si había o no crecimiento.

Control de recuentos de confirmación del inóculo:

[0134] Cada inóculo preparado se diluyó en serie usando PBS y se sembraron por duplicado diluciones seleccionadas usando placas de vertido de TSA. Todas las placas se incubaron de la misma manera que las placas de prueba, según lo aplicable para cada microorganismo problema.

Control de esterilidad del neutralizador:

[0135] Un único frasco que contenía el neutralizador se incubó durante 48±4 horas a 35-37 °C. El neutralizador se observó para determinar si había o no crecimiento.

Control de esterilidad del vehículo:

[0136] Se subcultivaron un vehículo de prueba no inoculado (por lote) y un vehículo de control en frascos independientes que contenían el neutralizador, y se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C. El neutralizador se observó para determinar si había o no crecimiento.

Control de viabilidad del vehículo:

[0137] Para cada microorganismo problema, se subcultivó un único vehículo de control inoculado en un frasco que contenía el neutralizador, y se incubó de la misma manera que en las placas de prueba según lo aplicable para cada microorganismo problema.

[0138] Los frascos del neutralizador se observaron para determinar si había o no crecimiento.

5 Control de efectividad del neutralizador:

[0139] Para cada microorganismo problema, por lote del artículo de prueba, se neutralizó un único vehículo de prueba estéril de la misma manera que en la prueba (transferidos en frascos individuales que contenían 20 ml de neutralizador). En cada frasco, se añadió una alícuota de 1,0 ml del inóculo diluido para obtener 100 UFC/ml en el neutralizador. El frasco se mezcló, y una alícuota de 1,0 ml se retiró y se sembró por duplicado.

10 **[0140]** Se realizó un control de números de la misma manera, excepto porque se utilizó un control estéril.

[0141] Todas las placas se incubaron de la misma manera que las placas de prueba, según lo aplicable para cada microorganismo problema.

Procedimientos de confirmación del microorganismo:

15 **[0142]** Una colonia seleccionada aleatoriamente de las placas de control de cuantificación del vehículo y, si procede, una colonia seleccionada aleatoriamente de una placa de prueba, se confirmó mediante morfología de colonia y tinción de Gram conforme a procedimientos operativos normalizados existentes. Los mismos procedimientos se llevaron a cabo utilizando las placas de control de pureza del cultivo, y también se documentó el resultado con respecto a la pureza.

Preparación de inóculos:

20 **[0143]** Las bacterias de cultivos madre se transfirieron en TSB y se incubaron a 35-37 °C durante 24±2 horas. Se realizaron transferencias a diario durante al menos tres días consecutivos (pero no más de 10 días). Para cada transferencia, se inocularon tubos que contenían 10 ml de TSB utilizando dos asas cargadas (4 mm de diámetro interior) de inóculo para cada tubo.

[0144] La película formada en el cultivo de *Pseudomonas aeruginosa* se aspiró antes de su uso.

25 **[0145]** Para todos los cultivos: las transferencias separadas más de 15 días con respecto a los cultivos madre no se utilizarán para los inóculos de la prueba.

[0146] Para el inóculo de las pruebas desinfectantes inicial y final:

30 **[0147]** Para cada microorganismo problema, se mezcló un cultivo de 48-54 horas en un mezclador de vórtice y se dejó reposar durante 15±1 minutos. Adición de carga orgánica: una alícuota de 0,25 ml de FBS más 0,05 ml de solución Triton X-100 al 0,05 % a 4,70 ml de suspensión de bacterias para obtener una carga de suelo de 5 % FBS y 0,01 % de Triton X-100. Los dos tercios superiores de cada cultivo se aspiraron y se utilizaron como inóculo.

35 **[0148]** Para la inoculación/reinoculaciones de los vehículos utilizados en las pruebas de desgaste simulado: para cada microorganismo problema, se mezcló un cultivo de 18-24 horas en un mezclador de vórtice y se dejó reposar durante 15±1 minutos. Los dos tercios superiores de cada cultivo se aspiraron y se utilizaron como inóculo. Se realizaron dos diluciones 1:100 del cultivo usando agua desionizada estéril (dos diluciones en serie de 0,1 ml a 9,9 ml) y una dilución final de 5,0 ml de la suspensión diluida a 5,0 ml de agua desionizada estéril. Adición de carga orgánica: una alícuota de 0,25 ml de FBS más 0,05 ml de solución Triton X-100 al 0,05 % a 4,70 ml de suspensión de bacterias para obtener una carga de suelo de 5 % FBS y 0,01 % de Triton X-100. Nota: no se dejó ningún cultivo junto con la carga orgánica durante más de ocho horas.

Preparación del vehículo de prueba y de control:

40 **[0149]** Las superficies (vehículos) de prueba y de control se limpiaron sumergiéndolas en 70-85 % de alcohol isopropílico, se enjuagaron con agua desionizada estéril y se dejaron secar al aire. Tras secarse completamente, los vehículos se esterilizaron con vapor durante 15 minutos a 121 °C. Los vehículos se dejaron enfriar y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su uso. Antes de su uso, cada vehículo se transfirió asépticamente a placas de Petri de plástico (una placa por cada vehículo) cubiertas con dos piezas de papel de filtro utilizando pinzas estériles. Para cada lote del material de prueba, por microorganismo, se prepararon dos conjuntos con cuatro vehículos replicados por conjunto, junto con dos conjuntos por microorganismo del material de control con cuatro vehículos replicados, cada uno para los aspectos principales de la prueba. Se prepararon superficies adicionales según lo requerido para los controles restantes.

Prueba de evaluación desinfectante inicial:

50 **[0150]** Para cada lote de la superficie de prueba, por microorganismo, se inocularon cuatro vehículos y cuatro vehículos de superficie de control (por microorganismo) a intervalos escalonados con 10 µl (0,01 ml) del inóculo desinfectante inicial preparado usando una pipeta calibrada. El inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8") del borde del vehículo, y se dejaron secar los vehículos durante 30-40 minutos a 35-37 °C, con una humedad relativa (HR) del 38-42 %. Justo después del secado, el tiempo de contacto (período de exposición) de 120 minutos se produjo a temperatura ambiente. Al final del tiempo de contacto de 120 minutos, cada vehículo se transfirió a un frasco que contenía 30 ml de neutralizador

a intervalos escalonados. Cada frasco se sometió a sonicación durante 20±2 segundos. Las muestras se mezclaron en un agitador orbital durante 3-4 minutos a 250 rpm. En una hora tras la sonicación, se prepararon diluciones en serie utilizando agua desionizada estéril (10^{-1} - 10^{-4}). Las alícuotas duplicadas de 1,0 ml de cada frasco/dilución (10^0 - 10^{-2}) se sembraron utilizando placas de vertido de TSA. Las alícuotas duplicadas de 1,0 ml de cada frasco/dilución (10^1 - 10^{-4}) para los vehículos de control se sembraron usando placas de vertido de TSA.

[0151] Nota: todas las diluciones y siembras para cada vehículo replicado se llevaron a cabo hasta una hora después de la transferencia en el neutralizador. Todas las placas de prueba se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

Desgaste simulado y reinoculación:

[0152] Antes de la inoculación, el probador de abrasión se ajustó a una velocidad de 2,25 — 2,50 durante un tiempo de contacto total de la superficie de aproximadamente 4-5 segundos para un ciclo completo. La velocidad se midió con un cronómetro calibrado. El ciclo de la máquina se calibró ajustando el contador a 1, 5, 10 y 20, y verificando el tiempo de ciclo. Se ajustó para que un pase en el probador de abrasión con las superficies fuera igual a un tiempo de contacto de aproximadamente 2 segundos. Un ciclo de desgaste equivaldrá a un pase a la izquierda y un pase de vuelta a la derecha en el limpiador Gardner con un bote de abrasión equipado con un forro de espuma y una tela de algodón seca. El bote de abrasión completamente montado consistirá en dos pesos, un forro de espuma y una tela de algodón. Se ensambló de manera aséptica. Se verificó que el peso del bote de peso completamente montado fuera de 1084 ±1 g antes de su uso. Para cada lote de la superficie de prueba, por microorganismo, se inocularon cuatro vehículos a intervalos escalonados con 10 µl (0,01 ml) del inóculo de desgaste simulado preparado usando una pipeta calibrada. El inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8") del borde del vehículo, y se dejaron secar los vehículos durante 30-40 minutos a 35-37 °C. Estos procedimientos de inoculación y secado se denominaron «reinoculación y secado». Para iniciar los ciclos de desgaste, cada vehículo se sometió a un ciclo de desgaste seco utilizando el probador de desgaste y capacidad de lavado Gardco y el bote de peso completamente ensamblado. Al menos 15 minutos después del ciclo de desgaste inicial; cada vehículo se reinoculó y se secó según se ha descrito anteriormente. Cada vehículo se sometió a un ciclo de desgaste húmedo utilizando el probador de desgaste y capacidad de lavado Gardco y el bote de peso completamente ensamblado. El bote de peso completamente ensamblado se pulverizó durante un segundo con agua desionizada estéril usando un pulverizador Preval (o equivalente) desde una distancia de 75±1 cm durante no más de un segundo. Al menos 15 minutos después de este ciclo de desgaste secundario, cada vehículo se reinoculó y se secó, y se sometió a desgastes alternativos secos y húmedos hasta que se realizaron un total de 11 reinoculaciones y 12 ciclos de desgaste, de acuerdo con los procedimientos y la línea temporal expuestos en la Tabla 1 en la siguiente página.

[0153] Nota: el soporte de superficies del aparato Gardner se descontaminó con un 70 % de IPA entre cada conjunto de desgastes de superficie para impedir la contaminación de arrastre. Se dejó que el IPA se evaporase completamente antes de proceder. El forro de espuma y la tela de algodón se sustituyeron entre cada conjunto de desgastes de superficie.

Procedimiento de desgaste y reinoculación

[0154]

1. Inoculación inicial y secado
2. Ciclo de desgaste con tela seca (desgaste n.º 1)
3. Reinoculación y secado
4. Ciclo de desgaste con tela húmeda (desgaste n.º 2)
5. Reinoculación y secado
6. Ciclo de desgaste con tela seca (desgaste n.º 3)
7. Reinoculación y secado

Fin del primer día

[0155]

8. Ciclo de desgaste con tela húmeda (desgaste n.º 4)
9. Reinoculación y secado
10. Ciclo de desgaste con tela seca (desgaste n.º 5)
11. Reinoculación y secado
12. Ciclo de desgaste con tela húmeda (desgaste n.º 6)
13. Reinoculación y secado
14. Ciclo de desgaste con tela seca (desgaste n.º 7)

15. Reinoculación y secado

16. Ciclo de desgaste con tela húmeda (desgaste n.º 8)

17. Reinoculación y secado

18. Ciclo de desgaste con tela seca (desgaste n.º 9)

5 19. Reinoculación y secado

20. Ciclo de desgaste con tela húmeda (desgaste n.º 10)

21. Reinoculación y secado

22. Ciclo de desgaste con tela seca (desgaste n.º 11)

23. Reinoculación y secado

10 24. Ciclo de desgaste con tela húmeda (desgaste n.º 12)

La evaluación desinfectante final se lleva a cabo después del 12.º ciclo de desgaste y dos días después de la inoculación inicial

15 [0156] Evaluación desinfectante final: (realizada al menos dos días después de la inoculación inicial a los procedimientos de desgaste simulado y reinoculación). Para cada lote de la superficie de prueba, por microorganismo, se inocularon cuatro vehículos y cuatro vehículos de superficie de control (por microorganismo) a intervalos escalonados con 10 µl (0,01 ml) del inóculo desinfectante final preparado usando una pipeta calibrada. El inóculo se extendió en aproximadamente 3,2 mm (1/8") del borde del vehículo, y se dejaron secar los vehículos durante 30-40 minutos a 35-37 °C, con una humedad relativa (HR) del 38-42 %. Justo después del secado, el tiempo de contacto (período de exposición) de 120 minutos fue a temperatura ambiente. Al final del tiempo de contacto, cada vehículo se transfirió a un frasco que contenía 30 ml de neutralizador a intervalos escalonados. Cada frasco se sometió a sonicación durante 20±2 segundos. Las muestras se mezclarán a continuación en un agitador orbital durante 3-4 minutos a 250 rpm. En una hora tras la sonicación, se prepararon diluciones en serie utilizando agua desionizada estéril (10^{-1} - 10^{-4}). Las alícuotas duplicadas de 1,0 ml de cada frasco/dilución (10^{-1} - 10^{-2}) para los vehículos de prueba se sembraron usando placas de vertido de TSA. Las alícuotas duplicadas de 1,0 ml de cada frasco/dilución (10^{-1} - 10^{-4}) para los vehículos de control se sembraron usando placas de vertido de TSA.

20 [0157] Nota: Todas las diluciones y siembras para cada vehículo replicado se llevaron a cabo hasta una hora después de la transferencia en el neutralizador. Todas las placas de prueba se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo. Para *Enterobacter aerogenes*: las placas se incubaron durante 48±4 horas a 25-30 °C, se contaron las colonias y se calcularon las UFC/vehículo.

30 A. Controles:

1. Control de pureza del cultivo:

[0158] Cada cultivo preparado se estrió para su aislamiento usando TSA (preparaciones de inóculos desinfectantes inicial y final, así como cada inóculo de desgaste simulado y reinoculación (dos, uno por cada día del régimen de dos días)). Todas las placas se incubaron con las placas de prueba. Los cultivos aislados se observaron para determinar su pureza.

35 2. Control de esterilidad del suelo orgánico:

[0159] Se sembraron alícuotas duplicadas de 1,0 ml del suelo orgánico preparado en placas de vertido de TSA. Esto se realizó en cada uno de los siguientes días del ensayo: los días de desinfección inicial y final y en cada uno de los dos días del procedimiento de desgaste simulado y reinoculación. Las placas se incubaron con las placas de prueba, y se observó si había o no crecimiento.

40 3. Control de recuentos de confirmación del inóculo:

[0160] Cada inóculo preparado se diluyó en serie usando PBS y se sembraron por duplicado diluciones seleccionadas usando placas de vertido de TSA. Esto se realizó en cada uno de los siguientes días del ensayo: los días de desinfección inicial y final y en cada uno de los dos días del procedimiento de desgaste simulado y reinoculación. Todas las placas se incubaron con las placas de prueba.

45 4. Control de esterilidad del neutralizador:

[0161] Un único frasco que contenía el neutralizador se incubó durante 48±4 horas a 35-37 °C. El neutralizador se observó para determinar si había o no crecimiento.

5. Control de esterilidad del vehículo:

50 [0162] Se subcultivaron un vehículo de prueba no inoculado (por lote) y un vehículo de control en frascos independientes que contenían el neutralizador, y se incubaron durante 48±4 horas a 35-37 °C. El neutralizador se observó para determinar si había o no crecimiento.

6. Control de viabilidad del vehículo:

[0163] Para cada microorganismo problema, se subcultivó un único vehículo de control inoculado en un frasco que contenía el neutralizador, y se incubó en el mismo con las placas de prueba (este control se realizó tanto durante el día de prueba de desinfección inicial como durante el de desinfección final). Los frascos del neutralizador se observaron para determinar si había o no crecimiento.

7. Control de efectividad del neutralizador:

[0164] La eficacia de neutralización se evaluó para cada microorganismo problema al mismo tiempo que la prueba. Usando pinzas estériles, se transfirieron vehículos estériles (una réplica por cada uno de los tres lotes de prueba y una réplica de la superficie de control) en frascos que contenían 30 ml de neutralizador. A intervalos de tiempo después de cada adición de superficie, se añadió una alícuota de la suspensión bacteriana (para obtener aproximadamente 1000 UFC), y los frascos se mezclarán. A los 5±1 minutos, se retiró una alícuota de 1,0 ml de cada frasco y se sembró usando placas de vertido de TSA. Estos procedimientos se repitieron usando diluciones adicionales (para obtener aproximadamente 500 UFC y 250 UFC). Todas las placas se incubaron con las placas de la prueba desinfectante inicial.

8. Prueba de susceptibilidad antimicrobiana de MRSA:

[0165] El cultivo de MRSA preparado se subcultivó en una placa de TSA+, y la placa se incubó durante aproximadamente 24 horas a 35-37 °C. Tras la incubación, se preparó una suspensión suspendiendo el crecimiento del cultivo de TSA+ en SS para obtener una turbidez equivalente a un estándar de McFarland de 0,5. Esta suspensión preparada se estrió sobre una placa de MHA en un patrón en forma de cruz, y se colocó un disco de 1 ug de oxacilina en el centro de la placa. La placa se invirtió y se incubó durante > 24 horas a 35-37 °C. Al mismo tiempo, se llevaron a cabo los mismos procedimientos usando el microorganismo de control, *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923, para confirmar la validez del ensayo. La interpretación de la zona de inhibiciones (ZOI) se basó en las normas de rendimiento establecidas del Comité Nacional de Normas de Laboratorios Clínicos (NCCLS). Según lo publicado actualmente, los puntos de corte de ZOI de la norma M100-S21 del NCCLS deben ser < 10 mm (redondeando a los mm enteros más cercanos) para confirmar la resistencia, de 11-12 mm se considera resistencia intermedia, y > 13 mm se confirma la susceptibilidad.

9. Procedimientos de confirmación del microorganismo:

[0166] Una colonia seleccionada aleatoriamente de las placas de control de cuantificación del vehículo y, si procede, una colonia seleccionada aleatoriamente de una placa de prueba, se confirmó mediante morfología de colonia y tinción de Gram conforme a procedimientos operativos normalizados existentes. Los mismos procedimientos se llevaron a cabo utilizando las placas de control de pureza del cultivo, y también se documentó el resultado con respecto a la pureza.

EJEMPLO 6 (REFERENCIA)**Métodos para producir materiales sólidos estructurales compuestos que contienen cobre: proceso de vertido continuo**

[0167] También era de interés establecer si podría utilizarse otra metodología para llegar a las estructuras compuestas/materiales sólidos de la presente divulgación. Con este fin, se construyó una máquina de vaciado continuo basada en una barrena con vacío integrado para un vertido sin vacío, máquina que permitió la mezcla de los ingredientes del producto.

[0168] La máquina se construyó con un sistema de inyección de catalizador, diseñado para permitir la introducción del catalizador justo en el último momento del mezclado de los materiales en la barrena, con el fin de reducir el riesgo de oxidación prematura a causa de la mezcla de óxido y peróxido, que puede acelerar la catálisis y limitar o prohibir el curado adecuado del material.

[0169] Como la máquina de vaciado usa una barrena central para mezclar todos los ingredientes, utiliza barrenas más pequeñas para recuperar los ingredientes de tolvas separadas unidas a la máquina a través de las barrenas más pequeñas. La figura 5 ofrece un diagrama de bloques que describe un protocolo representado para un proceso continuo de la presente divulgación. La etapa 1 del proceso representado ilustra la combinación de óxido de cobre (óxido cuproso y/u óxido cúprico) y trihidrato de alúmina (CuO/ATH) para obtener una mezcla uniforme. La etapa 2 del proceso representado describe el uso de barrenas pequeñas, que conducen a la resina, la mezcla maestra de PET y CuO/ATH a una barrena central. De acuerdo con este aspecto, la mezcla maestra de PET que contiene resina polimérica, óxido cuproso, óxido cúprico o una combinación de estos se prepara según lo descrito en la solicitud internacional PCT con número de publicación WO 2006/100665, y a esta pueden añadirse pigmentos. Los materiales se mezclan y se extruyen a alta temperatura para producir pellets de mezcla maestra, cuya concentración de óxido de cobre se verifica. La etapa 3 del proceso representado describe la mezcla de todos los materiales transportados a la barrena central. Dicha mezcla puede realizarse, en algunos modos de realización, en vacío y/o bajo presión. La etapa 4 del proceso representado describe la extrusión/vertido de la composición mezclada y el moldeado/vaciado en formas sólidas. En algunos aspectos representados, dicho vertido puede incluir el vaciado en superficie dura, el curado, por ejemplo, en un proceso discontinuo, el corte, acabado y pulido de los materiales producidos de este modo, etc. Además, pueden realizarse comprobaciones de control de calidad para la composición y el color.

[0170] En algunos aspectos, el protocolo representado puede hacer uso de tres barrenas más pequeñas que alimentan a la barrena de mezcla central más grande. Una barrena pequeña para el trihidrato de alúmina, una barrena pequeña para los pellets de mezcla maestra de óxido mezclados con PET, con un rango de tamaño de 100 µm (micras) a 600 µm (micras), y una barrena pequeña para el óxido cuproso.

5 **[0171]** Como resultado del tamaño fino en µm (micras) del óxido cuproso y su naturaleza autoadhesiva, cuando el polvo de óxido cuproso se colocó en el sistema de barrena sin importar el orden de mezclado de los componentes añadidos, el polvo no se desplazó uniformemente dentro del sistema de barrena, e incluso cuando se desplazó, no creció uniformemente en la barrena, produciendo una mezcla no uniforme y no homogénea. Además, se identificaron problemas con la distribución del color, ya que el óxido no se mezcló uniformemente y, en cambio, se agregó consigo mismo, dando
10 como resultado zonas grumosas de óxido y estriadas en el producto acabado, y una distribución irregular de los componentes activos de la tecnología. En resumen, se descubrió que el óxido no se dispersaría uniformemente y se mezclaría por sí solo, y daría como resultado un producto defectuoso.

15 **[0172]** Cuando el óxido cuproso con un tamaño en µm (micras) de entre 0,1 µm (micras) y 20 µm (micras) se mezcló con trihidrato de alúmina con un tamaño en µm (micras) de 12 a 20 µm (micras), la mezcla resultante se estabilizó no solo en términos de la distribución del óxido cuproso a través de las barrenas, sino que el producto resultante mostró una dispersión uniforme del material de óxido cuproso en el molde y en el producto acabado. El método de mezcla previa de trihidrato de alúmina (ATH)/óxido de cobre (ÓXIDO) utilizó el mezclado por caída, el mezclado con cuchillas o el mezclado con cintas durante entre treinta y cuarenta minutos. Cuando se realizó el mezclado durante menos de treinta minutos, no se consiguió una mezcla uniforme.

20 **[0173]** La mezcla de ATH/ÓXIDO permitió una distribución uniforme ideal en términos tanto estéticos (p. ej., en cuanto al color) como de eficacia antimicrobiana a través de la lámina vertida. (Esta proporción de mezcla puede ser cualquiera de 20:1 entre ATH y ÓXIDO y hasta 1:2 entre ATH y ÓXIDO).

25 **[0174]** Por lo tanto, se utilizó un proceso de mezclado para mezclar el óxido de cobre y ATH para producir una mezcla estable y uniforme donde el óxido de cobre está unido al ATH, cuya mezcla se desplaza después a través de una barrena desde una tolva designada más pequeña hacia una barrena de mezclado central dentro de una máquina de vaciado continuo.

30 **[0175]** La barrena pequeña movió eficazmente la mezcla mezclada desde la tolva llena de ATH/ÓXIDO hasta la tolva de mezclado principal de la máquina de vaciado, donde se combinó con una mezcla maestra de PET, como se ha descrito anteriormente en el presente documento, poliéster MMA con un intervalo de 10 % a 50 % en peso, y catalizador, con un intervalo de 0,02 a 4 % al vacío. A continuación, la mezcla se sometió a moldeo por vaciado. El producto resultante dio como resultado una lámina compuesta uniforme con una distribución homogénea del componente de óxido de cobre activo, que mostró eficacia antimicrobiana.

35 **[0176]** Las figuras 4A, 4B, 4C y 4D representan una serie de micrografías electrónicas de barrido, que representan la distribución uniforme de las partículas de cobre a través de un material sólido compuesto implementado de la presente exposición. Las figuras 4A y 4B muestran imágenes representativas de una superficie superior del material sólido compuesto implementado de la presente exposición, y las figuras 4C y 4D muestran imágenes representativas de una superficie inferior de un material sólido compuesto implementado de la presente exposición.

40 **[0177]** La EDS, o espectroscopía por dispersión de energía, es un proceso vinculado con la microscopía electrónica de barrido (SEM), en el que los electrones dispersos de la SEM se recogen y se analizan mediante un detector, que facilita la determinación de la composición de la muestra analizada mediante SEM.

[0178] La figura 4E proporciona los resultados de EDS 1, que confirman que las partículas observadas en las micrografías son partículas de cobre, en las muestras preparadas mediante el proceso continuo.

45 **[0179]** El hecho de mezclar el óxido cuproso con una pasta de poliéster en una relación de 100:1 a 4:1 (entre pasta y óxido) facilitó que el óxido cuproso se mezclase en una pasta estable y uniforme que pudo bombearse a la barrena principal de la máquina de vaciado continuo desde una mezcladora pequeña separada.

REIVINDICACIONES

1. Proceso de vertido continuo para la fabricación de un material sólido estructural compuesto que comprende una resina termoendurecible y partículas de óxido de cobre dispersadas en la misma de manera sustancialmente uniforme, comprendiendo el proceso las etapas de:
 - 5 mezclar un relleno con óxido de cobre hasta que esté bien mezclado para formar una mezcla de relleno y óxido de cobre;

 de forma gradual, mezclar posteriormente dicha mezcla de relleno y óxido de cobre con una resina termoendurecible, y opcionalmente un pigmento para formar una composición mezclada que contenga óxido de cobre;

 de forma gradual, mezclar posteriormente un catalizador con dicha composición mezclada que contiene óxido de cobre
10 para formar un material estructural compuesto polimerizable;

 distribuir dicho material estructural compuesto polimerizable en un molde; y

 proporcionar condiciones para la polimerización de dicho material estructural compuesto polimerizable, preparando así un material sólido estructural compuesto donde el óxido de cobre está presente a una concentración que oscila entre 15 % y 50 % p/p y donde una parte de dichas partículas de óxido de cobre están expuestas a la superficie.
 - 15 2. Proceso según la reivindicación 1, donde dicho catalizador es metiletilcetona.
 3. Proceso según la reivindicación 1, donde dicha resina termoendurecible comprende resinas epoxi o de poliéster.
 4. Proceso según la reivindicación 1, donde dicho material de relleno constituye hasta entre un 10 % y un 30 % en peso de la composición total.
 5. Proceso según la reivindicación 1, donde dichas partículas de óxido de cobre presentan un tamaño que oscila entre
20 aproximadamente 5 micras y aproximadamente 20 micras.
 6. Proceso según la reivindicación 1, donde dichas partículas de óxido de cobre presentan un tamaño que oscila entre aproximadamente 5 micras y aproximadamente 10 micras.
 7. Proceso según la reivindicación 1, que comprende además la etapa de preparar un producto acabado que incorpora dicho material sólido estructural compuesto.
 - 25 8. Proceso según la reivindicación 1, que comprende además la etapa de vaciar dicha mezcla de resina polimérica que contiene polvo de óxido de cobre y catalizador en una lámina.
 9. Proceso según la reivindicación 1, que comprende además la etapa de vaciar dicha mezcla de resina polimérica que contiene polvo de óxido de cobre y catalizador utilizando un proceso de moldeo por compresión.
 10. Proceso según la reivindicación 1, que comprende además la etapa de vaciar dicha mezcla de resina polimérica que
30 contiene polvo de óxido de cobre y catalizador utilizando un proceso de extrusión.
 11. Proceso según la reivindicación 1, que comprende además la etapa de vaciar dicha mezcla de resina polimérica que contiene polvo de óxido de cobre y catalizador utilizando un proceso de moldeo por inyección.

Fig.1

Resina polimérica impregnada con óxido cuproso
(poliéster)

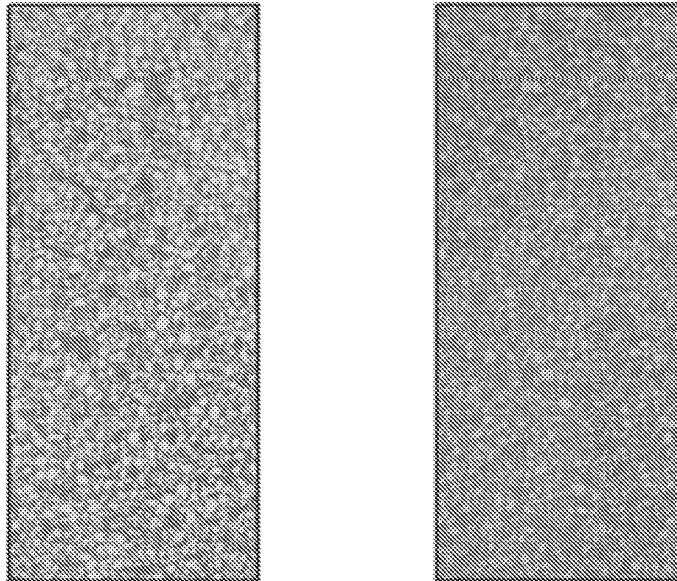


Fig.2A

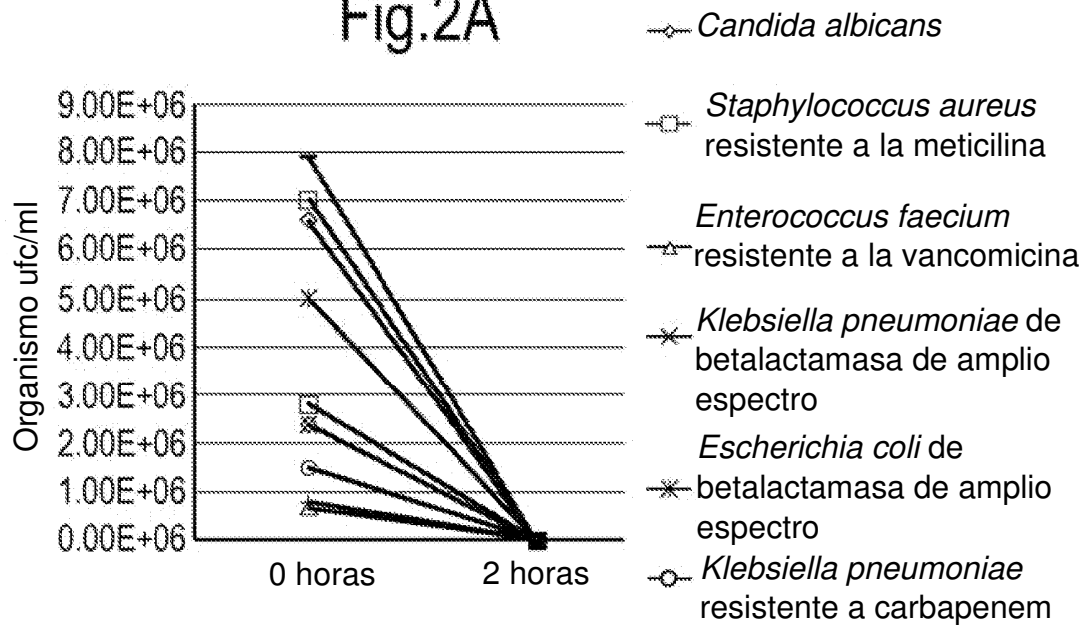


Fig. 2B

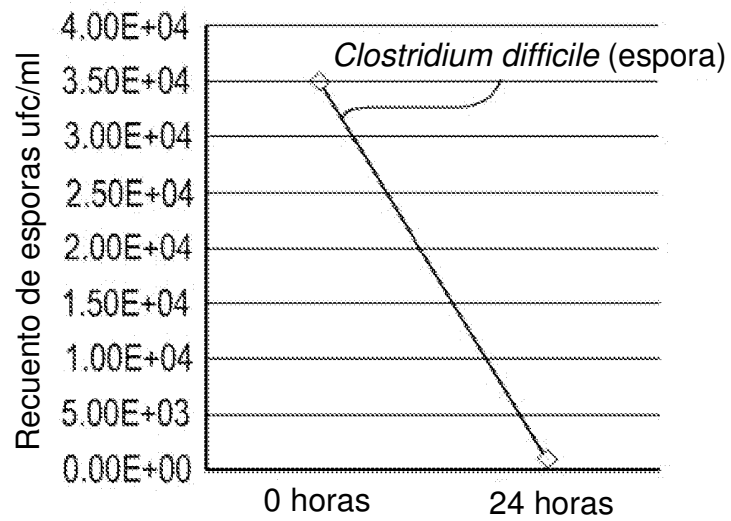


Fig. 2C

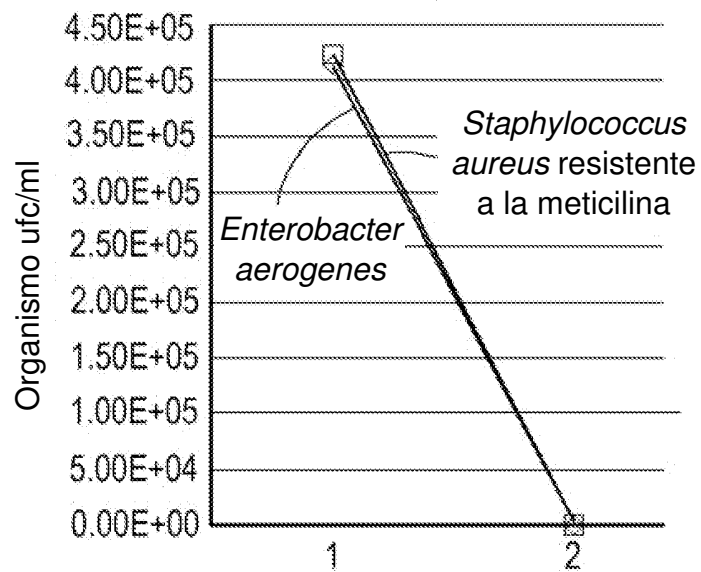


Fig.3

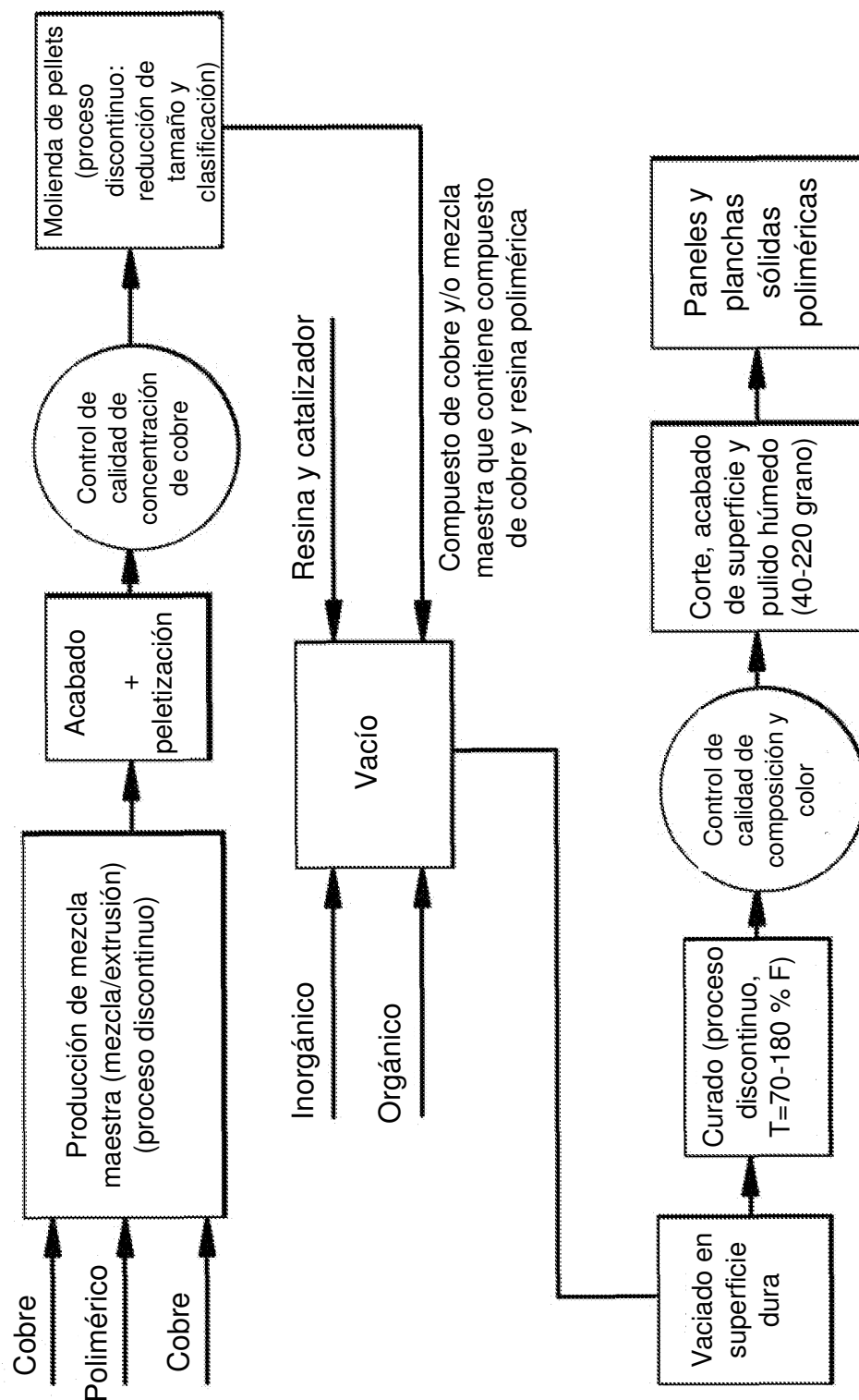


Fig.4A

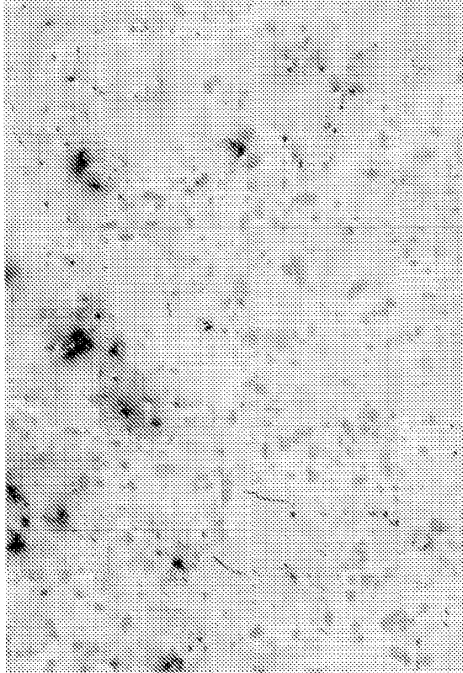


Fig.4C

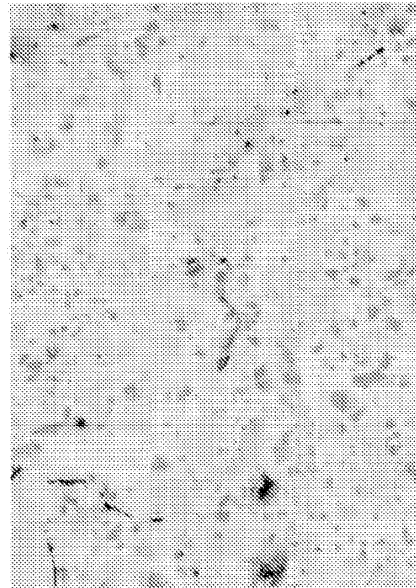


Fig.4B

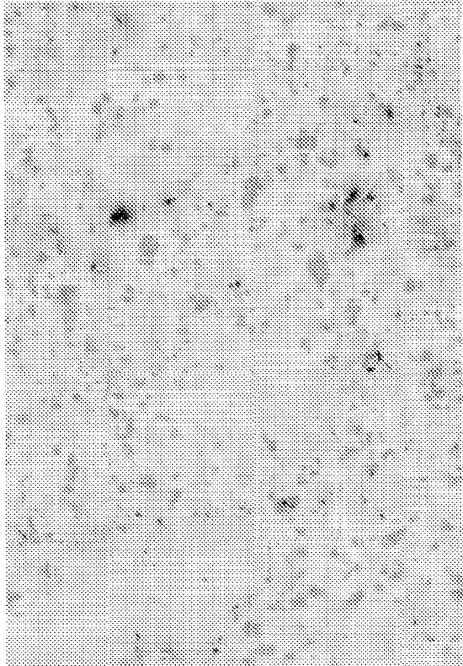


Fig.4D

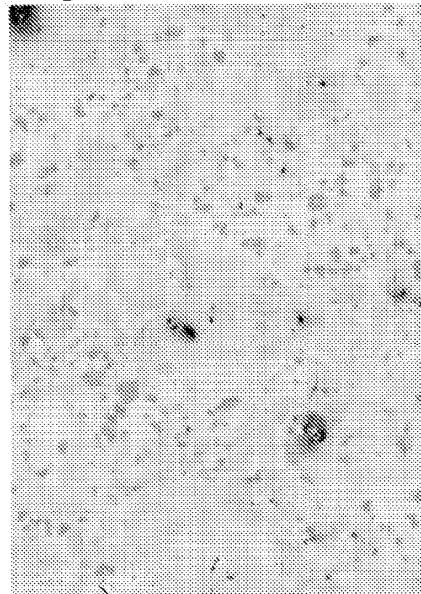


Fig.4E

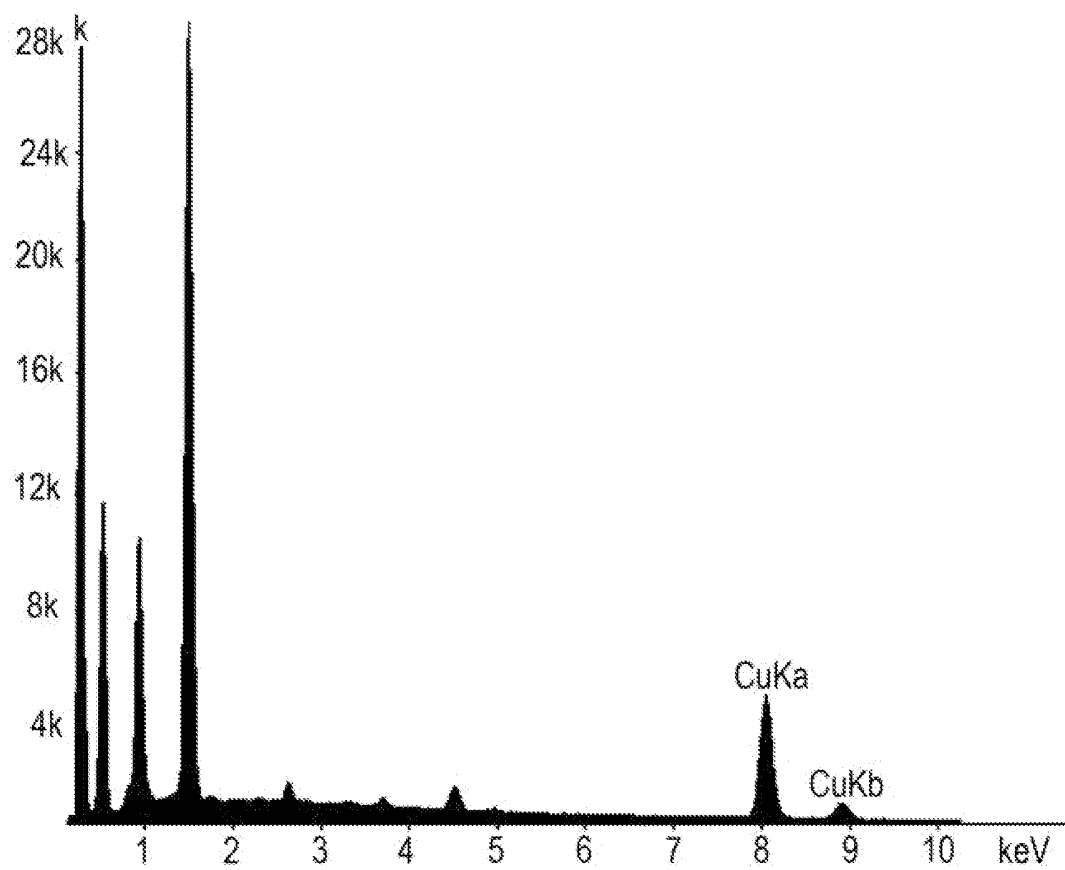
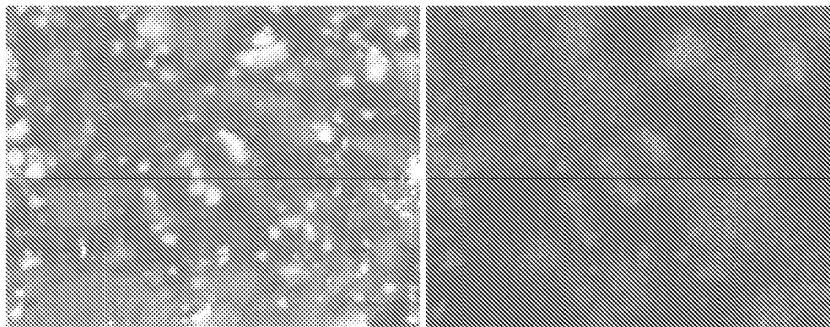


Fig.5

