

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 833 429**

(51) Int. Cl.:

D06M 13/352 (2006.01)
D06M 16/00 (2006.01)
D06M 23/10 (2006.01)
A01N 25/34 (2006.01)
A01N 43/50 (2006.01)
A01N 59/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.10.2015 PCT/US2015/053989**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.04.2016 WO16064559**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2015 E 15791059 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2020 EP 3209828**

(54) Título: **Composiciones fibrosas que contienen N-halamina y usos de las mismas**

(30) Prioridad:

21.10.2014 US 201462066655 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.06.2021

(73) Titular/es:

**AUBURN UNIVERSITY (100.0%)
570 Devall Drive, Suite 102
Auburn, AL 36832, US**

(72) Inventor/es:

**WORLEY, SHELBY D.;
BROUGHTON, ROYALL M.;
CERKEZ, IDRIS y
DEMIR, BUKET**

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 833 429 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

Composiciones fibrosas que contienen N-halamina y usos de las mismas

Referencia cruzada a aplicaciones relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio según 35 U.S.C. § 119(e) de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 5 de serie 62/066,655, presentada el 21 de octubre de 2014.

Campo técnico

La invención se refiere a la incorporación de un compuesto de N-halamina no corrosivo estable en composiciones fibrosas tales como, pero no se limita a, filtros de aire, mascarillas faciales, materiales quirúrgicos, apósitos para heridas y toallitas para su uso como prevención de infecciones y con fines de desinfección. La invención incluye las 10 composiciones fibrosas, la composición fibrosa para su uso en la protección de una persona y los métodos de producción de las composiciones fibrosas.

Antecedentes y resumen de la invención

Para una mejora constante en el campo del cuidado de la salud, es muy deseable una búsqueda continua de nuevos 15 compuestos antimicrobianos. Por ejemplo, se puede evaluar una clase de compuestos conocidos como N-halaminas orgánicas, que generalmente son monómeros heterocílicos o polímeros que contienen enlaces nitrógeno-halógeno. Los más estables de estos compuestos con respecto a la liberación de halógeno corrosivo en solución acuosa son aquellos que contienen enlaces covalentes N-Cl estabilizados por sustituyentes donantes de electrones (por ejemplo, grupos alquilo tal como grupos metilo) unidos a los átomos de carbono en las estructuras cíclicas unidas directamente al átomo de nitrógeno que contiene el átomo de halógeno oxidativo. El mecanismo por el cual estos compuestos de 20 N-halamina estables inactivan los microorganismos patógenos es a través de un contacto directo en el que la N-halamina dona su átomo de halógeno a la célula microbiana, en el que la célula se inactiva mediante un procedimiento de oxidación. Si el enlace N-Cl en la N-cloramina es lo suficientemente fuerte, el procedimiento de desinfección será 25 más lento que para el "cloro libre", que es el agente antibacteriano presente en el blanqueador doméstico. Sin embargo, si el cloro libre no se libera apreciablemente de una N-cloramina en un medio acuoso, entonces los procedimientos químicos tales como la corrosión y el blanqueado se minimizarán deseablemente mientras, al mismo tiempo, se mantiene la actividad antimicrobiana.

Adicionalmente, una matriz fibrosa desechable para su uso en la inactivación de patógenos y otros microorganismos 30 indeseables por contacto directo es muy deseada. En este sentido, se han explorado composiciones que usan nanopartículas de plata y nanotubos de carbono como agentes antimicrobianos, demostrando una reducción bacteriana después de un tiempo de residencia de 1200 minutos contra *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. Después del largo tiempo de residencia, la viabilidad bacteriana relativa se determinó como 32 %, 13 %, 5 % y 0.9 % en los filtros de control, nanotubos de carbono, nanopartículas de plata y nanotubos de plata/carbono modificados, respectivamente, para *S. epidermidis*. Asimismo, se determinó que la viabilidad bacteriana relativa era 35 del 13 %, 2.1 %, 0.4 % y 0.1 % en los filtros de control, nanotubos de carbono, nanopartículas de plata y nanotubos de plata/carbono modificados, respectivamente, para *E. coli*. Adicionalmente, se ha demostrado una inhibición completa de *E. coli* en filtros de carbón activado depositados con plata en un tiempo de contacto de 60 minutos, y se demostró que el tiempo de contacto necesario para una inhibición completa de *Bacillus subtilis* es de 10 minutos.

Otro obstáculo en la preparación de composiciones fibrosas es la deseable penetración de aire de los materiales, por 40 ejemplo, los materiales filtrantes. Es importante destacar que la actividad antimicrobiana puede verse comprometida si la penetración del aire se reduce considerablemente mediante el procedimiento en el que las composiciones fibrosas se recubren con compuestos antimicrobianos. Adicionalmente, un compuesto antimicrobiano eficaz suspendido en un apósito para heridas idealmente debería acentuar la cicatrización y prevenir infecciones en pacientes infligidos con heridas. Aunque existen productos comerciales que reivindican ser eficaces para estos fines, tales como los que 45 contienen sales de plata, sales de amonio cuaternario y biguanidas, los productos existentes tienen numerosas características indeseables. Por ejemplo, las sales de plata son caras y se requieren altas concentraciones para que sean eficaces. Una concentración de plata típica para un apósito Aquacel® Silver Ag es del 1.2 % (p/p), y el coste varía entre aproximadamente \$ 6 y \$ 50 por vendaje, según el tamaño y el uso. Asimismo, las sales de amonio cuaternario y las biguanidas también son caras y pueden ser menos eficaces en la velocidad de inactivación, requiriendo por lo general más de una hora para proporcionar una inactivación de bacterias de 6 log. Además, dado 50 que los microorganismos también provocan olores indeseables, también son muy deseables los compuestos antimicrobianos suspendidos en una matriz fibrosa desechable que son útiles como preventivos de olores.

Por lo tanto, existe la necesidad de un compuesto antimicrobiano estable y económico que se pueda suspender en 55 una matriz fibrosa desechable para su uso en la inactivación de patógenos y otros microorganismos indeseables por contacto directo. Dicha composición fibrosa antimicrobiana podría encontrar uso en numerosos productos textiles desechables, por ejemplo, como filtros de aire, mascarillas faciales, materiales quirúrgicos, apósitos para heridas y toallitas, para proteger a las personas de infecciones en su vida diaria. Además, tales composiciones fibrosas antimicrobianas se podrían usar en cartuchos o láminas plegadas en sistemas de manejo de aire en aviones,

instalaciones médicas o incluso hogares para prevenir la propagación de infecciones en las instalaciones. Una aplicación muy deseada es que las mascarillas faciales protejan al personal médico cuando dichas personas estén en contacto con pacientes infectados y para proteger a los pacientes de infecciones nosocomiales debidas al contacto con el personal médico.

- 5 De acuerdo con lo anterior, la presente divulgación proporciona composiciones fibrosas que comprenden compuestos de N-halamina antimicrobianos en los que la N-halamina es 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona, que exhiben propiedades deseables y proporcionan ventajas relacionadas para la mejora en el campo de la salud. Las composiciones fibrosas y los métodos según la presente divulgación proporcionan varias ventajas en comparación con las conocidas en la técnica. En primer lugar, los compuestos de N-halamina son compuestos antimicrobianos estables y económicos que se puede suspender en numerosas composiciones fibrosas para su uso en muchas aplicaciones diferentes. En segundo lugar, las composiciones fibrosas que comprenden un compuesto de N-halamina requieren deseablemente menos tiempo para proporcionar una inactivación antimicrobiana suficiente. En tercer lugar, las composiciones fibrosas que comprenden un compuesto de N-halamina permiten una amplia penetración de aire de los materiales como resultado de su preparación y pueden acentuar de manera deseable la curación y prevenir 10 infecciones cuando se aplican a pacientes con heridas. En cuarto lugar, las composiciones fibrosas que comprenden un compuesto de N-halamina son económicas y requieren una cantidad menor de concentración activa para ser eficaces. En quinto lugar, dado que los microorganismos también causan olores indeseables, las composiciones fibrosas que comprenden un compuesto de N-halamina también pueden ser útiles como agentes para prevenir los olores. Finalmente, dado que los compuestos de N-halamina son agentes oxidantes suaves, las composiciones que comprenden un compuesto de N-halamina son capaces de oxidar tales sustancias químicas tóxicas como el agente 15 de guerra química sulfuro de bis-dicloroetilo ("mostaza").
- 20

Breve descripción de los dibujos

- La figura 1 muestra la configuración experimental para probar la N-halamina, 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona, en una aplicación de filtro de aire antimicrobiano contra bacterias patógenas en una corriente de aire que fluye.

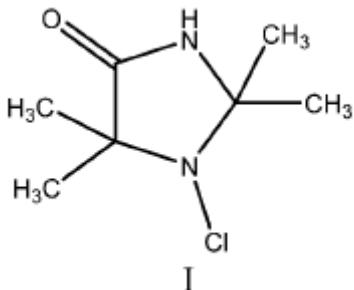
- 25 Se describen en este documento diversas realizaciones de la invención como sigue. En una realización descrita en este documento, se proporciona una composición fibrosa. La composición fibrosa comprende una N-halamina, en la que la N-halamina es 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona, en la que la N-halamina está impregnada en la composición fibrosa.
- 30 En otra realización descrita en este documento, se proporciona un producto para su uso en la protección de una persona de una infección, en el que el uso comprende la etapa de poner en contacto a la persona con una composición fibrosa que comprende una N-halamina, en la que la N-halamina es 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona, en el que la N-halamina está impregnada en la composición fibrosa. En otra realización más descrita en este documento, 35 un método de producción de una composición fibrosa que comprende 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona impregnada en la composición fibrosa, comprendiendo dicho método la etapa de aplicar la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona a una tela y en el que la etapa de aplicación comprende disolver la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona en un disolvente para formar una solución.

- 40 Como se usa en este documento, el término "composición fibrosa" se refiere a cualquier composición que tenga como componente al menos un tipo de fibra. Una N-halamina es un compuesto que contiene uno o más enlaces covalentes nitrógeno-halógeno que normalmente se forma mediante la halogenación de grupos imida, amida o amina e incluye compuestos que tienen la siguiente estructura general:



- 45 La N-halamina de la presente invención es 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona ("compuesto I"). El compuesto I es una N-halamina estable tanto en solución acuosa como en estado sólido siempre que no se exponga a la luz solar directa o radiación ultravioleta extensa. A temperatura ambiente, la constante de equilibrio de hidrólisis del compuesto I para producir su precursor 2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona y "cloro libre" (HOCl) es inferior a 10^{-11} . A baja concentración en solución acuosa (por ejemplo, 25 mg/L), se requieren tiempos de contacto prolongados (por lo general entre 1 y 10 horas, dependiendo del pH) para obtener una reducción de 6 log de *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, el tiempo de contacto necesario para obtener dicha reducción se reduce considerablemente cuando se usan 50 concentraciones más altas del compuesto I. Adicionalmente, el compuesto I es económico y se puede preparar según los procedimientos descritos en la Patente de los Estados Unidos No. 5,057,612, la Patente de los Estados Unidos No. 5,126,057, o Tsao et al. "Novel N-halamine Disinfectant Compounds," Biotechnol. Prog. 1991; 7:60).

El compuesto I tiene la siguiente fórmula química:



En diversas realizaciones descritas en este documento, la composición fibrosa es una composición fibrosa desechable. Como se usa en este documento, el término "desechable" incluye composiciones diseñadas para un solo uso y para usos múltiples. En otras realizaciones, la composición fibrosa es una composición fibrosa estable. Como se usa en este documento, el término "composición fibrosa estable" se refiere a una composición que es estable a la pérdida de cloro oxidativo cuando se almacena en un ambiente apropiado (por ejemplo, un ambiente oscuro o un ambiente sustancialmente libre de luz fluorescente). Por ejemplo, una composición fibrosa se puede considerar una composición fibrosa estable cuando mantiene la estabilidad frente a la pérdida de cloro oxidativo durante un período de tiempo de 3 meses, 6 meses, 9 meses o más.

- 5 10 En algunas realizaciones descritas en este documento, la composición fibrosa tiene un valor de peso base de aproximadamente 15 g/m² a aproximadamente 25 g/m². Como se usa en este documento, el término "peso base" se refiere generalmente al peso de la tela que comprende la composición fibrosa. En otras realizaciones, la composición fibrosa tiene un valor de peso base de aproximadamente 20 g/m² a aproximadamente 50 g/m². En otras realizaciones más, la composición fibrosa tiene un valor de peso base de aproximadamente 22 g/m². En algunas realizaciones, la
15 composición fibrosa tiene un valor de peso base de aproximadamente 25 g/m² a aproximadamente 50 g/m². En otras realizaciones, la composición fibrosa tiene un valor de peso base de aproximadamente 25 g/m² a aproximadamente 75 g/m². En otras realizaciones más, la composición fibrosa tiene un valor de peso base de aproximadamente 50 g/m².

20 La N-halamina está impregnada en la composición fibrosa. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa se selecciona del grupo que consiste en filtros de aire, mascarillas faciales, mascarillas quirúrgicas, apósticos para heridas, vendajes de gasa, batas quirúrgicas, pijamas quirúrgicas, paños quirúrgicos, gorros quirúrgicos, botines quirúrgicos, ropa, esponjas dentales, esponjas quirúrgicas, productos para la incontinencia, pañales, toallas médicas, ropa de cama médica, protectores de cama, toallitas secas y toallitas húmedas.

25 En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un filtro de aire. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una máscara facial. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una mascarilla quirúrgica. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un apósito para heridas. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un vendaje de gasa. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una bata quirúrgica. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una pijama quirúrgica. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un paño quirúrgico. En otras realizaciones más proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un gorro quirúrgico. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un par de botines quirúrgicos. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es ropa. En otras realizaciones más proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una esponja dental. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una esponja quirúrgica. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un producto para la incontinencia. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un pañal. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una toalla médica. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una ropa de cama médica. En otras realizaciones más proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es un protector de cama. En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una toallita seca. En otras realizaciones proporcionadas en este documento, la composición fibrosa es una toallita húmeda.

40 45 La 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona impregnada en la composición fibrosa se disuelve en un disolvente para formar una solución. Como se usa en este documento, el término "disolvente" tiene su significado general entendido en la técnica, por ejemplo, un material que disuelve otra sustancia sin cambiar su estado físico.

En algunas realizaciones descritas en este documento, el disolvente es un disolvente orgánico. En otras realizaciones más descritas en este documento, el disolvente es un alcohol. En determinadas realizaciones descritas en este documento, el alcohol es alcohol etílico. En otras realizaciones descritas en este documento, el alcohol es alcohol

isopropílico. En otras realizaciones más descritas en este documento, el disolvente es un disolvente volátil. En determinados aspectos, el disolvente volátil se evapora sobre la composición fibrosa. Los disolventes que se pueden usar según la presente divulgación son conocidos en la técnica o pueden ser fácilmente determinados por un experto en la técnica.

- 5 En determinados aspectos proporcionados en este documento, la composición fibrosa es capaz de inactivación de uno o más microorganismos patógenos. Por ejemplo, la composición fibrosa puede ser capaz de inactivar una bacteria patógena, un virus patógeno u otro tipo de microorganismo patógeno. En otros aspectos, la composición fibrosa es capaz de inactivación de uno o más microorganismos causantes de olor.
- 10 En algunas realizaciones proporcionadas en este documento, la concentración de 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona ("compuesto I") en el disolvente está entre aproximadamente 0.002 y aproximadamente 3.0 por ciento en peso. En otras realizaciones, la concentración de la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona en el disolvente está entre aproximadamente 0.5 y aproximadamente 1.5 por ciento en peso. En otras realizaciones más, la concentración de la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona en el disolvente es de aproximadamente el 1.0 por ciento en peso.
- 15 La presente divulgación también proporciona una composición fibrosa para su uso en la protección de una persona de una infección, en la que el uso comprende la etapa de poner en contacto a la persona con una composición fibrosa que comprende una N-halamina, en la que la N-halamina es 1-cloro.-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona, en la que la N-halamina está impregnada en la composición fibrosa.
- 20 En determinados aspectos, la persona que se va a proteger es un personal sanitario. En diversas realizaciones, el personal sanitario se encuentra cerca de una persona afectada por la infección. Por ejemplo, se contempla que el personal médico en contacto con pacientes infectados esté protegido por la composición fibrosa para su uso en la protección de una persona. En otros aspectos, la persona que se va a proteger es un paciente. En varias realizaciones, el paciente debe estar protegido de una infección nosocomial. Por ejemplo, los pacientes pueden estar protegidos de infecciones nosocomiales debido a su contacto con el personal médico. Como se usa en este documento, el término "infección nosocomial" se refiere a una infección que se origina en un centro de atención médica, tal como un hospital.
- 25 En otros aspectos, la persona que se va a proteger por el método se encuentra en un lugar público. Por ejemplo, las personas pueden ser consumidores generales en lugares públicos que usan las composiciones fibrosas descritas en este documento para la protección o las medidas preventivas de los organismos que causan infecciones que pueden estar presentes en entornos potencialmente contaminados. Las personas en algunas partes del mundo usan habitualmente mascarillas faciales en lugares públicos debido al potencial de brotes biológicos.
- 30 En diversas realizaciones descritas en este documento, la infección es una infección bacteriana. En algunas realizaciones, la infección bacteriana es causada por una bacteria transportada por el aire. En algunas realizaciones, la infección bacteriana es causada por una bacteria patógena. En algunas realizaciones, la infección bacteriana es causada por una bacteria que causa el olor.
- 35 En diversos aspectos, la infección bacteriana es causada por una bacteria Gram positiva. En algunas realizaciones, la bacteria Gram positiva es *Staphylococcus aureus*. En otros aspectos, la infección bacteriana es causada por una bacteria Gram negativa. En algunas realizaciones, la bacteria Gram negativa es *Escherichia coli*. En ciertas realizaciones, *Escherichia coli* es *E. coli* O157:H7. En otras realizaciones, la bacteria Gram negativa es *Pseudomonas aeruginosa*.
- 40 En diversos aspectos descritos en este documento, la infección es una infección viral. En determinadas realizaciones, la infección viral está provocada por un virus transportado por el aire.
- 45 El contacto de la persona con la composición fibrosa es un contacto dermatológico. Por ejemplo, un "contacto dermatológico" puede incluir cualquier contacto del organismo causante de la infección con cualquier parte de la piel de la persona o con una cubierta exterior membranosa de la persona. En otros aspectos, el contacto de la persona con la composición fibrosa es un contacto no dermatológico. En otros aspectos más, el contacto con la persona es un contacto aéreo.
- 50 Adicionalmente, el término "contacto" significa cualquier contacto directo o indirecto de la composición fibrosa con la persona que se va a proteger. Por ejemplo, un contacto indirecto de una composición fibrosa con una persona ocurre cuando una persona usa una mascarilla facial que incluye una tela no tejida que está incrustada entre dos capas de la mascarilla facial.
- 55 La presente divulgación también proporciona un método de producción de una composición fibrosa que comprende 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona impregnada en la composición fibrosa, comprendiendo dicho método la etapa de aplicar la 1-cloro -2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona a una tela y en el que la etapa de aplicación comprende disolver la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona en un disolvente para formar una solución.
- 56 En determinados aspectos, la aplicación se realiza mediante una técnica de almohadilla seca. En algunas realizaciones descritas en este documento, el disolvente es un disolvente orgánico. En otras realizaciones más

descritas en este documento, el disolvente es un alcohol. En determinadas realizaciones descritas en este documento, el alcohol es alcohol etílico. En otras realizaciones descritas en este documento, el alcohol es alcohol isopropílico. En otras realizaciones más descritas en este documento, el disolvente es un disolvente volátil. En determinados aspectos, el disolvente volátil se evapora sobre la composición fibrosa. Los disolventes que se pueden usar según la presente divulgación son conocidos en la técnica o pueden ser fácilmente determinados por un experto en la técnica. En determinados aspectos, la etapa de aplicación comprende remojar la composición fibrosa en la solución. En otros aspectos, la etapa de aplicación comprende pulverizar la solución sobre la composición fibrosa. En diversas realizaciones, el disolvente se evapora de la composición fibrosa.

En diversas realizaciones descritas en este documento, la etapa de aplicación comprende llenar la composición fibrosa. Por ejemplo, la composición fibrosa se puede llenar a través de un escurridor tal como un escurridor de laboratorio. En otras realizaciones, la etapa de aplicación comprende secar la composición fibrosa. Por ejemplo, la composición fibrosa se puede secar al aire a temperatura ambiente o cualquier otra temperatura deseada por debajo de aproximadamente 50 °C, o la composición fibrosa se puede secar usando un coadyuvante de secado tal como un secador mecánico.

15 Ejemplo 1

Producción y síntesis de N-halamina 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona

En el presente ejemplo, se proporciona la producción y síntesis de la N-halamina 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona (compuesto I).

La N-halamina, compuesto I se puede adquirir comercialmente de HaloSource Corporation (Bothell, Washington, EE.UU.). Adicionalmente, la N-halamina, compuesto I, se puede sintetizar usando métodos conocidos para los expertos en la técnica. Las soluciones acuosas del precursor de amina no halogenada para el compuesto se pueden exponer a una solución acuosa diluida de blanqueador doméstico (por ejemplo, hipoclorito de sodio) o clorito de sodio o burbujeando gas cloro para formar la N-cloramina. Por ejemplo, el compuesto I se ha preparado usando cloro gaseoso para reaccionar con una solución alcalina acuosa de la amina precursora (véase Tsao, et al, "Novel N-halamine Disinfectant Compounds," Biotechnol. Prog, 1991; 7:60 y Worley et al, Patente de los Estados Unidos 5,057,612,).

El precursor 2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona se puede preparar según el método descrito en Tsao o en Worley basado en la oxidación de la tiona correspondiente con peróxido de hidrógeno en solución básica. La tiona se puede preparar mediante el método de Christian (véase "4-imidazolidinethiones," J. Org. Chem, 1957; 22:396), que implica la reacción de cianuro de sodio, cloruro de amonio, sulfuro de amonio y acetona en solución acuosa. El contenido de cloro oxidativo, y por tanto la pureza, del compuesto I se puede medir usando un procedimiento estándar de titulación yodométrica/tiosulfato. El compuesto I en su forma pura contiene 20.1 por ciento en peso de cloro oxidativo. Tiene una solubilidad en agua a 22 °C de 1930 mg/L. El porcentaje en peso de cloro oxidativo presente en estas condiciones saturadas a 22 °C para el compuesto I es 0.0388. Sin embargo, el compuesto es mucho más soluble en alcohol etílico o isopropílico, de modo que se puede obtener fácilmente una solución superior a 5000 mg/L de cloro oxidativo.

Ejemplo 2

Preparación y uso de mascarillas faciales antimicrobianas que contienen N-halamina

En el presente ejemplo, la N-halamina 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona (compuesto I) se prepara y evalúa en realizaciones de mascarillas faciales antimicrobianas.

Se obtuvieron telas no tejidas sopladas en fusión de polipropileno cargadas electrostáticamente de Hollingsworth & Vose Company (East Walpole, MA, EE. UU.) Con pesos base de 50 g/m² y 22 g/m², que se producen para su uso como sustratos para respiradores de tipo N95 y aplicaciones de mascarilla facial quirúrgica, respectivamente. El sustrato no tejido de polipropileno cumple con las normas NIOSH del gobierno de EE. UU., y las normas europeas EN 149 para aplicaciones de respiradores quirúrgicos y N95. Los filtros Millipore (tamaño de poro de 0.45 µm) se obtuvieron de VWR Inc. (Radnor, PA, EE.UU.). Para la cloración se usó blanqueador doméstico de la marca Clorox® (Clorox, Inc, Oakland, CA, EE. UU.). Los cultivos bacterianos de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 se obtuvieron de American Type Culture Collection (Rockville, MD, EE. UU.), y el agar de soja Trypticase se obtuvo de Difco Laboratories (Detroit, MI, EE. UU.). El efecto de las aplicaciones sobre la permeabilidad al aire de las telas se probó en un probador de permeabilidad al aire Frazier Precision Instrument (Hagerstown, MD, EE. UU.) (usando aceite rojo Meriam), tanto en telas no tejidas de polipropileno de 22 g/m² como de 50 g/m², a 21 °C y 65 % de humedad relativa. La caída de presión se ajustó a 0.5 pulgadas de agua. La permeabilidad al aire se registró en pies cúbicos de flujo de aire por minuto por pie cuadrado (ft³/min/ft²).

El compuesto I (1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-imidazolidinona) al 1 % en peso) se disolvió en una solución de alcohol etílico a temperatura ambiente, y luego se empaparon las piezas de 300 cm² de telas no tejidas de polipropileno en la solución durante 10 minutos. A continuación, las telas se llenaron a través de un escurridor de laboratorio (Birch Brothers Southern, Waxhaw, NC, EE. UU.) en configuraciones de baja presión. Este procedimiento fue seguido por el

secado de las telas a temperatura ambiente durante 24 horas. Las telas de control fueron no tejidos de polipropileno de 22 g/m² y 50 g/m² sin tratar. El disolvente de alcohol etílico no altera ni el compuesto I ni el polipropileno.

Se usó un procedimiento de titulación yodométrica/tiosulfato modificado para determinar el contenido de cloro activo en las telas impregnadas con el compuesto I (véase, por ejemplo, Worley et al, "Novel N-halamine Siloxane Monomers and Polymers for Preparing Biocidal Coatings," Surf. Coat. Int, Part B, 2005; 88:93) el % de Cl⁺ se calculó mediante la ecuación que se presenta a continuación, donde el % de Cl⁺ es el porcentaje en peso del cloro oxidativo, N y V son

$$\% \text{ de Cl}^+ = \left(\frac{35.45 \times N \times V}{2 \times W} \right) \times 100$$

la normalidad (equiv/L) y volumen (L) del Na₂S₂O₃ (valorante), respectivamente, y W es el peso de la tela de polipropileno en gramos.

- 10 En el presente ejemplo se evaluó la estabilidad en almacenamiento o vida útil de las telas impregnadas de 22 g/m². Las muestras de tela se almacenaron en un armario (por ejemplo, un ambiente oscuro) sin exposición a luz fluorescente y en la mesa de laboratorio (por ejemplo, bajo luz fluorescente) a temperatura ambiente. Se midió la estabilidad del contenido de cloro en el tiempo durante 24 semanas. Las estabilidades de las telas impregnadas con el compuesto I con un peso base de 22 g/m² se determinaron a 22 °C midiendo la cantidad de cloro restante en las telas usando el procedimiento estándar de titulación yodométrica/tiosulfato.

15 Se realizaron dos tipos de pruebas para determinar la eficacia biocida de las realizaciones de la mascarilla facial. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 6538) se usó como bacteria grampositiva y *Escherichia coli* (*E. coli* O157:H7, ATCC 43895) como bacteria gramnegativa para desafiar a las telas tratadas (impregnadas con el compuesto I) y no tratadas (control).

- 20 En el primer método, se usó una "prueba de sándwich" (véase Worley et al, "Novel N-halamine Siloxane Monomers and Polymers for Preparing Biocidal Coatings," Surf. Coat. Int, Part B, 2005; 88:93). En este procedimiento, las bacterias se suspendieron en solución reguladora de fosfato 100 µM (pH 7) para producir una suspensión de concentración conocida de bacterias (unidades formadoras de colonias, CFU/mL). A continuación, se colocó una alícuota de 25 µL de esta suspensión en el centro de una muestra cuadrada de 2.54 cm y se colocó una segunda muestra idéntica encima. Ambas muestras se cubrieron con un peso estéril para asegurar un contacto suficiente con las bacterias. Después de los tiempos de contacto predeterminados, las muestras se inactivaron con 5.0 mL de solución estéril de tiosulfato de sodio 0.02 N para neutralizar el cloro oxidativo y terminar de este modo la acción de desinfección. Las muestras se agitaron con vórtex durante 2 minutos y luego se prepararon diluciones en serie usando solución reguladora de fosfato 100 µM de pH 7 y se sembraron en placas de agar de soja Trypticase. Después de incubar las placas a 37 °C, durante 24 horas, se contaron las colonias bacterianas para el análisis de eficacia biocida.
- 25 Para cada tiempo de contacto, se agitó con vórtex un sándwich de muestra de tela único en una solución de extinción para lavar las bacterias en una suspensión que se sembró inmediatamente en diluciones en serie duplicadas seguido de incubación y recuento de las colonias viables de bacterias. Todos los experimentos se realizaron al menos dos veces (en días diferentes) usando diferentes inóculos bacterianos.

- 30 35 El segundo procedimiento se basó en el método ASTM F 2101.01 "Métodos de prueba estándar para evaluar la eficacia de la filtración bacteriana de materiales de mascarilla facial médica, usando un aerosol biológico de *Staphylococcus aureus*", y se aplicó una versión modificada del método. Se preparó una suspensión de bacterias en 200 ml de solución reguladora de fosfato 100 µM (pH 7) para producir una suspensión de población conocida (unidades formadoras de colonias, CFU/mL). Primero, pequeñas muestras de dos telas de prueba (3.175 cm de diámetro, 7.91 cm²), una impregnada con el compuesto I y la otra un control no impregnado, se sujetaron en una cámara de filtro en condiciones estériles antes de desafiarlas con bacterias en aerosol. Las bacterias *S. aureus* y *E. coli* O157:H7, respectivamente, se aerosolizaron usando un nebulizador de un chorro a través de la cámara. En la figura 1 se muestra un diagrama del aparato experimental.

- 40 45 50 Se introdujeron bacterias en aerosol en la cámara de aerosol en forma de U usando aire de laboratorio comprimido donde la presión del aire de flujo se ajustó a 20 psi a través de un regulador de presión. El flujo de aire se fijó en 259 mL/min mediante un medidor de flujo y se dejó pasar a través de las telas de prueba tratadas y no tratadas durante 3 horas. Aproximadamente 0.046 m³ de aire contaminado con bacterias se aerosolizó desde el nebulizador, pero solo una fracción de las bacterias entró en contacto con las telas de prueba debido a la tortuosa trayectoria entre el nebulizador y las cámaras que contienen las telas de prueba. Después de 3 horas de exposición, se interrumpió el flujo de aerosol y las muestras de la máscara se retuvieron en la cámara de prueba durante 10 minutos más.

- 55 Se montaron pequeños filtros Millipore esterilizados porosos (0.45 µm) aguas abajo de las telas de prueba. Cualquiera de los bioaerosoles que penetraron a través de las muestras de la máscara se recogieron en los filtros Millipore de la cámara. Después de la residencia adicional de 10 minutos en la cámara, las muestras se retiraron asepticamente y se transfirieron a 5.0 mL de solución estéril de tiosulfato de sodio 0.02 N para neutralizar cualquier cloro y de este modo terminar la acción de desinfección. De manera similar al procedimiento de análisis anterior, las muestras de mascarilla se agitaron en vórtex durante 2 minutos y luego se prepararon diluciones en serie diez veces mayores usando solución

reguladora de fosfato 100 μM de pH 7 y se colocaron en placas de agar de soja Trypticase. Después de incubar las placas a 37 °C, durante 24 horas, se contaron las colonias bacterianas para el análisis de eficacia biocida. Todos los experimentos se realizaron por duplicado en días diferentes.

5 La presencia del compuesto I en las telas impregnadas se confirmó mediante caracterización FTIR. Los resultados de la titulación analítica de las telas mostraron la presencia de cloro oxidativo unido al compuesto I. Es importante destacar que el compuesto I no se unió químicamente a las fibras de polipropileno y no afectó sus estructuras; más bien, el compuesto I se adsorbió en las fibras y no se pudo eliminar mecánicamente, sino solo mediante solubilización con agua.

10 Los resultados de la estabilidad de la vida útil se resumen en la tabla 1. Las telas que se almacenaron en condiciones ambientales oscuras retuvieron sus cargas iniciales de cloro, esto es, las telas no mostraron una pérdida significativa de cloro durante un período de tiempo de 6 meses. La variación en las cargas de cloro que se muestra en la tabla 1 puede atribuirse a diferentes cargas de muestra inicial debido a inconsistencias en los materiales de muestra del filtro. Sin embargo, cuando las telas se expusieron a luz fluorescente, se observó una rápida pérdida de cloro. Casi toda la carga inicial de cloro se perdió en un período de tiempo de 2 semanas y el cloro restante se perdió después de 3 semanas de exposición. Con el fin de proporcionar actividad antimicrobiana, se sugirió que era suficiente una carga de 0.04 % en peso de Cl⁺. Las telas aún pueden mostrar eficacia biocida después de 2 semanas de exposición a luz fluorescente. La pérdida de cloro de las telas se asoció con la foto disociación del enlace N-Cl. Un material de filtro impregnado con el compuesto I se debe almacenar en envases opacos en aplicaciones reales.

Tabla 1. Estabilidad al almacenamiento de las telas impregnadas con el compuesto I^a.

Tiempo (semanas)	Almacenamiento oscuro ^b	Luz fluorescente ^b
Inicial	0.36	0.40
2	0.37	0.05
3	0.40	0
5	0.37	0
8	0.40	0
12	0.42	0
24	0.41	0

^aEl error en la carga de Cl⁺ medida fue de aproximadamente ± 0.01 .

^b Las cargas de cloro se informan en % en peso de Cl⁺.

20 La impregnación de las telas con el compuesto I no influyó significativamente en la permeabilidad al aire de las telas, ya que la permeabilidad al aire de las telas tratadas de 50 g/m² y 22 g/m² permaneció esencialmente igual que para las telas no tratadas. Se registró que la permeabilidad al aire promedio de las telas de base de mayor peso impregnadas (50 g/m²) y las telas de base de menor peso (22 g/m²) fueron $28 \pm 0.5 \text{ ft}^3/\text{min}/\text{ft}^2$ y $52.5 \pm 1.5 \text{ ft}^3/\text{min}/\text{ft}^2$, respectivamente. Esto se debe al desarrollo de productos de los materiales. Dado que las telas de 50 g/m² se diseñaron para filtrar el 95 % de las partículas en el aire, los tamaños de los poros de la tela eran más pequeños que los de la tela de 22 g/m². Además, el mayor espesor (0.43 mm) de la tela de 50 g/m² podría provocar una menor permeabilidad al flujo de aire que para la tela más delgada (0.16 mm) de 22 g/m². Las telas impregnadas exhibieron una permeabilidad al aire más alta que la mayoría de los materiales de ropa protectora actualmente en uso y más alta que para un polipropileno recubierto de polímero antimicrobiano anterior (Cerkez, et al, "Antimicrobial Surface Coatings for Polypropylene Nonwoven Fabrics", React. Funct. Polym, 2013; 73:1412) y la mayoría de los materiales de ropa protectora actualmente estudiados (Lee et al, "Developing Protective Textile Materials as Barriers to Liquid Penetration using Melt-electrospinning," J. Appl. Polym. Sci, 2006; 102:3430).

35 La eficacia antimicrobiana de los materiales de la máscara se analizó mediante el método de prueba de contacto en sándwich. Se evaluó la eficacia antimicrobiana de las muestras tratadas (impregnadas con el compuesto I) y no tratadas (control) desafiando ambos tipos de telas contra *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 donde la población de inóculo de bacterias era $1.80 \times 10^6 \text{ CFU}$ y $1.27 \times 10^6 \text{ CFU}$, respectivamente. En la tabla 2, los resultados antimicrobianos se resumen en diferentes intervalos de tiempo de contacto.

40 Las dos telas de prueba formuladas, con pesos base de 50 g/m² y 22 g/m², mostraron una reducción bacteriana significativa contra las bacterias *S. aureus* y *E. coli* O157:H7. Las muestras no impregnadas (control) mostraron reducciones mucho menores incluso después de 30 minutos de tiempo de contacto. Estas reducciones se debieron a

la adherencia de bacterias vivas a la muestra de la mascarilla, no a la inactivación de bacterias. Ambos tipos de tela mostraron una inactivación completa de 6 log contra *E. coli* O157:H7 después de 10 minutos de tiempo de contacto. Las telas mostraron tasas de inactivación algo mejores frente a *S. aureus*.

5 Aunque las telas probadas comprenden el mismo compuesto de N-halamina y cargas de cloro oxidativo, la tasa de inactivación fue diferente entre el peso base bajo y alto de las telas frente a *S. aureus*. Las telas más ligeras tenían una tasa de inactivación más lenta en comparación con las telas más pesadas. Las telas más pesadas mostraron una reducción de 6.26 log dentro de los 5 minutos del tiempo de contacto, mientras que las telas más ligeras proporcionaron una reducción de 4.13 log. Dado que las telas más pesadas (50 g/m^2) contenían una mayor cantidad de átomos de cloro que las telas más ligeras (22 g/m^2) debido a la mayor superficie proporcionada por el espesor de la tela, la inactivación de las bacterias fue más rápida para las telas más pesadas. Aunque poseían concentraciones más bajas de átomos de cloro, las telas de menor peso seguían siendo muy eficaces, ya que solo se requerían 10 minutos para inactivar completamente la bacteria *S. aureus*.

Tabla 2. Resultados de eficacia biocida de 1 % en peso de material de pieza frontal no tejida de polipropileno impregnada con el compuesto I

	Muestras	Tiempo de contacto (min)	Reducción bacteriana (log)	
			<i>S. aureus</i> ^a	<i>E. coli</i> ^b
	Control	30	1.64	0.047
		5	4.13	3.68
22 g/m ²	Compuesto I	10	6.26	6.10
	% Cl ⁺ =0.52	15	6.26	6.10
		30	6.26	6.10
		-	-	-
	Control	30	1.69	0.023
		5	6.26	3.80
50 g/m ²	Compuesto I	10	6.26	6.10
	% Cl ⁺ =0.52	15	6.26	6.10
		30	6.26	6.10

^a El inóculo para la bacteria *S. aureus* fue de 1.80×10^6 CFU o 6.26 log por muestra.

^b El inóculo para la bacteria *E. coli* O157:H7 fue de 1.27×10^6 CFU o 6.10 log por muestra.

15 Las muestras tratadas (impregnadas con el compuesto I) y no tratadas (control) de ambos tipos de telas también se ensayaron frente a *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 mediante una prueba de aerosol. Los resultados de muestras de polipropileno de 50 g/m^2 y 22 g/m^2 se muestran contra los bioaerosoles de *E. coli* O157:H7 y *S. aureus* en las tablas 3 y 4, respectivamente. Ambos tipos de telas fueron extraordinariamente eficaces contra ambos tipos de aerosoles. 20 Se usaron como controles muestras sin tratar de ambos tipos de telas (50 g/m^2 y 22 g/m^2). Por ejemplo, después de 3 horas de nebulización en aerosol, la carga promedio de bacterias *E. coli* O157:H7 en muestras de control de 50 g/m^2 y 22 g/m^2 de dos conjuntos diferentes de experimentos fue de 2.15×10^3 CFU/muestra y 1.60×10^3 CFU/muestra, respectivamente (véanse la tabla 3 y la tabla 4). El promedio de bacterias *S. aureus* viables recolectadas en las muestras de control de 50 g/m^2 y 22 g/m^2 fueron 6.08×10^4 CFU/muestra y 1.92×10^5 CFU/muestra, respectivamente (véanse la tabla 3 y la tabla 4).

25 Los experimentos se realizaron en días diferentes. Por lo tanto, se usaron diferentes soluciones bacterianas en cada experimento a pesar de que las concentraciones de CFU de bacterias se prepararon para que fueran las mismas (1×10^8 CFU/mL). La ligera diferencia de carga bacteriana en las muestras de control para cada experimento fue la esperada para este tipo de experimentos desafiantes. El número total de CFU de aerosol de *E. coli* O157:H7 recogidas fue sistemáticamente menor que el número total de CFU de aerosol de *S. aureus* recogidas. Esto podría atribuirse

5 posiblemente al efecto de las formas bacterianas y los tamaños aerodinámicos de *S. aureus* (esferas) frente a *E. coli* (varillas) en la corriente de aire nebulizado que golpea las paredes del tubo y se adsorbe allí. Además, en el presente ejemplo, ningún organismo sobrevivió para ser capturado por los filtros Millipore para las fibras ya sea tratadas o no tratadas, aunque los organismos no fueron inactivados por las fibras de control. Independientemente, las telas impregnadas con el compuesto I mostraron una reducción significativa contra *E. coli* O157:H7 y contra aerosoles de *S. aureus* e inactivaron las concentraciones totales de los aerosoles recogidos en las telas.

10 En comparación con las investigaciones actuales sobre mascarillas de filtro antimicrobianas, los resultados actuales presentan una mayor actividad antimicrobiana. Además, en este ejemplo, se montó un material de filtro tipo Millipore detrás de las telas de prueba para recoger bioaerosoles que pudieran pasar a través de las telas de control e impregnadas. No se observaron bacterias viables en el material de filtro Millipore, lo que indica que ambos tipos de telas no tejidas fueron eficaces para capturar todas las bacterias aerosolizadas y fueron eficaces para inactivar el número total de bacterias aerosolizadas cuando se impregnaron con el compuesto I. Esto sugiere que N95 y los tipos quirúrgicos de mascarillas usados en este ejemplo pueden prevenir la penetración/desvío de las bacterias del aerosol. Adicionalmente, en un escenario de uso real, el compuesto I se podría aplicar a una capa de fusión por soplado interna 15 que no entraría en contacto con la piel del usuario. De acuerdo con lo anterior, no hay problemas de biocompatibilidad o toxicidad ya que el compuesto I no es volátil (pf de 157 °C) y no emite ningún gas de cloro (constante de disociación inferior a 10^{-11}). Las mascarillas de filtro serían desecharables después de un solo uso y podrían almacenarse en paquetes opacos sellados para evitar el contacto prematuro con la humedad o la luz, evitando de este modo la pérdida del compuesto I durante el almacenamiento de vida útil prolongada.

20 En resumen, las mascarillas faciales impregnadas con N-halamina, compuesto I, son eficaces para prevenir la propagación de patógenos en aerosol y, de este modo, serían eficaces para prevenir la propagación de infecciones. Adicionalmente, los filtros de aire, en general, impregnados con el compuesto I deberían ser eficaces para prevenir la propagación de enfermedades.

Tabla 3. Eficacias biocidas de telas de 50 g/m² frente a los bioaerosoles *E. coli* O157:H7 y *S. aureus*.

Muestras (50 g/m ²)	Tiempo de exposición al aerosol	Bacterias viables recuperadas (CFU/muestra)			
		<i>E. coli</i> (Ej. 1)	<i>E. coli</i> (Ej. 2)	<i>S. aureus</i> (Ej. 3)	<i>S. aureus</i> (Ej. 4)
Control	3 h	2.90 x 10 ³	1.40 x 10 ³	1.47 x 10 ⁴	1.07 x 10 ⁵
Compuesto I	3 h	0	0	0	0
% CI ^a = 0.47					
Filtro ^a	3 h	0	0	0	0
Filtro ^b	3 h	0	0	0	0

^aEl material de filtro estéril Millipore en el lado de control de la cámara.

^bEl material de filtro estéril Millipore en el lado del compuesto I de la cámara.

Muestras (22 g/m ²)	Tiempo de exposición al aerosol	Bacterias viables recuperadas (CFU/muestra)			
		<i>E. coli</i> (Ej. 5)	<i>E. coli</i> (Ej. 6)	<i>S. aureus</i> (Ej. 7)	<i>S. aureus</i> (Ej. 8)
Control	3 h	1.87 x 10 ³	1.33 x 10 ³	1.00 x 10 ⁴	3.73 x 10 ⁵
Compuesto I	3 h	0	0	0	0
% CI ^a = 0.47					
Filtro ^a	3 h	0	0	0	0
Filtro ^b	3 h	0	0	0	0

^aEl material de filtro estéril Millipore en el lado de control de la cámara.

^bEl material de filtro estéril Millipore en el lado del compuesto I de la cámara.

Ejemplo 3

Preparación y uso de apósoitos antimicrobianos para heridas que contienen N-halamina

En el presente ejemplo, la N-halamina 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona (compuesto I) se prepara y evalúa en realizaciones de apósoitos antimicrobianos para heridas.

El compuesto I a una concentración de 1 % en peso se disolvió en alcohol etílico a temperatura ambiente. Se empaparon almohadillas de gasas antiadherentes de tamaño 20.3 x 7.6 cm (8 x 3 pulgadas) obtenidas de Curad® en la solución durante 10 minutos. Las almohadillas de gasas se pasaron luego a través de un escurridor de laboratorio (Birch Brothers Southern, Waxhaw, NC, EE. UU.) en configuraciones de baja presión. Este procedimiento fue seguido por el secado de las muestras a temperatura ambiente durante la noche. La carga de cloro oxidativo titulado de las almohadillas de gasas fue de 0.47 ± 0.01 % en peso.

Las almohadillas de gasas impregnadas con compuesto I y las almohadillas de gasas estériles no impregnadas (usadas como se recibieron como controles) fueron desafiadas con *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 6538), *Escherichia coli* (*E. coli* O157:H7, ATCC 43895) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, ATCC 27853). Las bacterias se suspendieron en solución reguladora de fosfato 100 μM (pH 7) para producir una suspensión de población conocida (unidades formadoras de colonias, CFU/mL). A continuación, se colocó una alícuota de 25 μL de esta suspensión en el centro de una muestra de gasa de 2.54 x 2.54 cm^2 y se colocó una segunda muestra idéntica encima. Ambas muestras se cubrieron con un peso estéril para asegurar un contacto suficiente con las bacterias. Despues de tiempos de contacto predeterminados, las muestras se inactivaron con 5.0 mL de solución estéril de tiosulfato de sodio 0.02 N para neutralizar el cloro oxidativo y terminar de este modo la acción de desinfección. Las muestras se agitaron con vórtex durante 2 minutos y luego se prepararon diluciones en serie usando solución reguladora de fosfato 100 μM de pH 7 y se sembraron en placas de agar de soja Trypticase. Despues de que las placas se incubaron a 37 °C, durante 24 horas, se contaron las colonias bacterianas viables para el análisis de eficacia biocida.

Los resultados del presente experimento se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Eficacias biocidas de almohadillas de gasas impregnadas y no impregnadas con el compuesto I contra *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 y *P. aeruginosa*.

Muestras	Tiempo de contacto (min)	Reducción bacteriana (log)		
		<i>S. aureus</i> *	<i>E. coli</i> * O157:H7	<i>P. aeruginosa</i> *
Control	30	0.16	0.15	0.37
	1	3.07	5.86	6.12
Compuesto I	5	6.00	5.86	6.12
	10	6.00	5.86	6.12
	30	6.00	5.86	6.12

* Las concentraciones de inóculo fueron 6.00, 5.86 y 6.12 logaritmos para *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 y *P. aeruginosa*, respectivamente. La carga de cloro en las muestras impregnadas con el compuesto I fue de 0.47 ± 0.01 % en peso.

Como se muestra en la tabla 5, las muestras de gasa impregnadas con el compuesto I inactivaron aproximadamente 6 log de *E. coli* O157:H7 y *P. aeruginosa* en 1 minuto y mostraron una inactivación completa de 6 log de *S. aureus* dentro del intervalo de 1 a 5 minutos de tiempo de contacto. Se puede concluir que la impregnación de apósoitos para heridas con el compuesto I tiene un gran potencial para controlar infecciones en heridas.

Ejemplo 4

Preparación y uso de toallitas antimicrobianas que contienen N-halamina

En el presente ejemplo, la N-halamina 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona (compuesto I) se prepara y evalúa en realizaciones de toallitas antimicrobianas. En el presente ejemplo se realizaron dos tipos de evaluaciones antimicrobianas. La primera prueba se diseñó para evaluar el potencial de las toallitas húmedas impregnadas con el compuesto I para inactivar las bacterias por contacto directo. La segunda prueba se diseñó para evaluar el potencial del compuesto I para prevenir el crecimiento de bacterias cuando el compuesto I se deposita en una superficie mediante una toallita húmeda.

En la primera prueba, las toallitas húmedas comerciales de la marca CVS se secaron primero a 45 °C, durante 1 hora antes de la impregnación con soluciones del compuesto I. Se prepararon diferentes concentraciones (% en peso) del compuesto I en alcohol etílico, y las toallitas se empaparon en las soluciones durante 5 minutos. Después de empapar en las soluciones, cada toallita se montó entre dos papeles de filtro y se colocó un peso de 290 gramos uniformemente sobre la pila. Al final de un período de 30 segundos, las toallitas húmedas se colocaron en viales cerrados para evitar una mayor pérdida de disolvente. La tabla 6 muestra las ganancias de peso húmedo (% en peso) y la carga de cloro oxidativo medida por titulación yodométrica/tiosulfato de las toallitas impregnadas con diferentes concentraciones del compuesto I. La carga de cloro aumentó linealmente con un aumento de la concentración del compuesto I en solución de alcohol etílico.

Tabla 6. Cargas de cloro (% de Cl⁺ en peso) y ganancias de peso (% en peso) de las toallitas en diferentes concentraciones de soluciones del compuesto I.

Concentración del compuesto I en alcohol etílico (% en peso)	Ganancia de peso húmedo (% en peso)	* Carga de cloro (% Cl ⁺ en peso)	
		mediante peso húmedo	mediante peso seco
1.5	79	0.24	1.14
1.0	76	0.16	0.66
0.5	80	0.08	0.40
0.25	75	0.04	0.16

* El error en los valores de porcentaje en peso de Cl⁺ medidos fue ± 0.01.

Para las pruebas antibacterianas, se usaron toallitas comerciales de la marca CVS tal como se recibieron como controles y se prepararon toallitas impregnadas con el compuesto I a una concentración de 1.0 % en peso en alcohol etílico como se describió anteriormente. Las toallitas impregnadas y no impregnadas fueron desafiadas con *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 6538 y *Escherichia coli* (*E. coli* O157:H7, ATCC 43895). Las bacterias se suspendieron en solución reguladora de fosfato 100 µM (pH 7) para producir una suspensión de población conocida (unidades formadoras de colonias, CFU/mL). Luego, una alícuota de 25 µL de esta suspensión se colocó en el centro de 4 capas de muestras de 2.54 x 2.54 cm, y se colocaron una segunda idéntica de 4 capas de muestras en la parte superior. Ambas muestras se cubrieron con un peso estéril para asegurar un contacto suficiente con las bacterias. Después de tiempos de contacto predeterminados, las muestras se apagaron con 5.0 mL de solución estéril de tiosulfato de sodio 0.02 N para neutralizar el cloro oxidativo y terminar de este modo la acción de desinfección. Las muestras se agitaron con vórtex durante 2 minutos, y luego se prepararon diluciones en serie usando pH 7, solución reguladora de fosfato 100 µM y se sembraron en placas de agar de soja Trypticase. Después de que las placas se incubaron a 37 °C, durante 24 horas, las colonias bacterianas viables se contaron para el análisis de eficacia biocida.

La reducción biocida de las toallitas húmedas impregnadas con compuesto I y las toallitas comerciales de la marca CVS contra *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 se muestran en la tabla 7. Las muestras impregnadas con compuesto I inactivaron 6.5 logaritmos de *E. coli* O157:H7 y 6.35 logaritmos de *S. aureus* después de solo 1 minuto de tiempo de contacto. Las toallitas comerciales de la marca CVS no mostraron una reducción biocida significativa de *S. aureus* en un tiempo de contacto de 1 minuto y solo 3.22 log después de 10 minutos. Sin embargo, las toallitas pudieron mostrar una reducción completa de 6.5 log de *E. coli* O157:H7 después de 5 minutos de contacto. El contenido de alcohol en las toallitas comerciales (aproximadamente 76 % en peso) puede explicar las reducciones logarítmicas, ya que el alcohol en sí mismo puede inactivar las bacterias hasta cierto punto. La presencia del compuesto I en las toallitas indudablemente aumenta su eficacia antimicrobiana.

Tabla 7. Eficacias biocidas de las toallitas comerciales de la marca CVS contra *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 con y sin el compuesto I impregnado.

Muestras	Tiempo de contacto (min)	Reducción bacteriana (logs)

		<i>S. aureus</i> ^a	<i>E. coli</i> O157:H7 ^a
Toallitas de la marca CVS	1	0.48	1.52
	2	0.51	1.72
	3	0.92	2.00
	5	1.04	6.50
	10	3.22	6.50
Toallitas ^b impregnadas con el compuesto I	1	6.35	6.50
	2	6.35	6.50
	3	6.35	6.50
	5	6.35	6.50
	10	6.35	6.50

^aLas concentraciones de inóculo fueron 6.35 y 6.50 para *S. aureus* y *E. coli* O157:H7, respectivamente.

^b La carga de cloro oxidativo en muestras impregnadas con el compuesto I fue 0.66±0.01 % en peso.

- En la segunda prueba, las toallitas multisuperficies comerciales de la marca CVS (que no se reivindican como antimicrobianas) se secaron primero a 45 °C, durante 1 hora antes de impregnarlas con el compuesto I. En particular, el compuesto I se disolvió en alcohol etílico a una concentración de 1.0 % en peso, y las toallitas se empaparon en la solución durante 5 minutos. Se emplearon como controles toallitas multisuperficies comerciales de la marca CVS empapadas en alcohol etílico. Después de empapar en las soluciones de alcohol etílico, todas las toallitas húmedas se montaron entre dos papeles de filtro y se colocó un peso de 290 gramos sobre las toallitas. Al final de un período de 30 segundos, las toallitas húmedas preparadas se transfirieron a viales cerrados para evitar la pérdida de disolvente adicional. La carga de cloro oxidativo de las toallitas impregnadas con el compuesto I fue 0.69±0.01 % en peso.
- 5 Las toallitas impregnadas con el compuesto I y las toallitas de control se usaron para limpiar superficies de fórmica cortadas de 2.54 x 2.54 cm. Para imitar el procedimiento de limpieza en superficies, las toallitas se sujetaron con pinzas esterilizadas. Se aplicó un procedimiento de aplicación de limpieza constante sobre las piezas de fórmica con las toallitas tratadas durante 30 segundos para asegurar que cada pieza de fórmica estuviera completamente recubierta. El procedimiento se repitió para toallitas empapadas en alcohol etílico como experimento de control. Se usó un segundo control de las superficies de fórmica en el que no se aplicó ningún procedimiento de limpieza sobre las superficies antes de la prueba antimicrobiana. Después de la evaporación del disolvente volátil, las superficies de la muestra de fórmica se secaron. Las superficies de la muestra de fórmica limpiadas con toallitas impregnadas con el compuesto I contenían una película delgada del compuesto.
- 10 Las muestras de fórmica se desafiaron luego con *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 6538) y *Escherichia coli* (*E. coli* O157:H7, ATCC 43895) en diferentes tiempos de contacto en una prueba de "sándwich". Las bacterias se suspendieron en solución reguladora de fosfato 100 µM (pH 7) para producir una suspensión de población conocida (unidades formadoras de colonias, CFU/mL). Luego, la superficie de fórmica se desafió con una alícuota de 25 µL de esta suspensión y se colocó encima una segunda pieza idéntica de fórmica. Ambas piezas de fórmica se cubrieron con un peso estéril para asegurar un contacto suficiente con las bacterias. Después de tiempos de contacto predeterminados, las muestras se inactivaron con 5.0 mL de solución estéril de tiosulfato de sodio 0.02 N para neutralizar el cloro oxidativo y terminar de este modo la acción de desinfección. Las muestras se agitaron con vórtex durante 2 minutos y luego se prepararon diluciones en serie usando solución reguladora de fosfato 100 µM de pH 7 y se sembraron en placas de agar de soja Trypticase. Después de que las placas se incubaron a 37 °C, durante 24 horas, se contaron las colonias bacterianas viables para el análisis de eficacia biocida. Los resultados se muestran en la tabla 8.
- 15
- 20
- 25
- 30

Tabla 8. Eficacia biocida de una superficie que se desafía con bacterias después de limpiar la superficie con toallitas impregnadas con el compuesto I.

Muestras	Tiempo de contacto (min)	Reducción bacteriana (log)

		<i>S. aureus</i> *	<i>E. coli</i> O157:H7*
Control ^a	1	1.21	0.01
	5	1.27	0.05
	30	1.38	0.01
	60	1.66	0.09
Control ^b	1	1.13	0.03
	5	1.27	0.03
	30	1.48	0.07
	60	1.52	0.11
Superficie recubierta con el compuesto I ^c	1	3.57	0.09
	5	6.00	0.16
	30	6.00	6.24
	60	6.00	6.24

^a Las superficies de control no se limpiaron con alcohol etílico.

^b Las superficies de control se limpiaron con muestras empapadas en alcohol etílico al 100 % y se dejaron secar.

^c Las superficies ensayadas se limpian con muestras impregnadas con el compuesto I y se dejaron secar. La carga de cloro oxidativo de las toallitas impregnadas con el compuesto I fue 0.69±0.01 % en peso.

* Las concentraciones de inóculo fueron 6.00 y 6.24 log para *S. aureus* y *E. coli* O157:H7, respectivamente.

Se puede concluir a partir de los datos de la tabla 8 que la película aplicada del compuesto I sobre una superficie evitará el crecimiento de bacterias en la superficie.

REIVINDICACIONES

1. Una composición fibrosa que comprende una N-halamina, en la que la N-halamina es 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona, en la que la N-halamina está impregnada en la composición fibrosa.
- 5 2. La composición fibrosa de la reivindicación 1, en la que la composición fibrosa es una composición fibrosa desecharable.
- 10 3. La composición fibrosa de la reivindicación 1, en la que la composición fibrosa se selecciona del grupo que consiste en filtros de aire, mascarillas faciales, mascarillas quirúrgicas, apósticos para heridas, vendajes de gasa, batas quirúrgicas, pijamas quirúrgicas, paños quirúrgicos, gorros quirúrgicos, botines quirúrgicos, ropa, esponjas dentales, esponjas quirúrgicas, productos para la incontinencia, pañales, toallas médicas, ropa de cama médica, protectores de cama, toallitas secas y toallitas húmedas.
- 15 4. La composición fibrosa de la reivindicación 1, en la que la N-halamina está suspendida en la matriz de la composición fibrosa.
- 5 5. La composición fibrosa de la reivindicación 1, en la que la composición fibrosa es una composición fibrosa seca.
6. La composición fibrosa de la reivindicación 1, en la que la composición fibrosa comprende tela no tejida de polipropileno y la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona se adsorbe sobre las fibras de la tela de polipropileno.
- 15 7. Una composición fibrosa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en la protección de una persona de una infección, en la que dicho uso comprende la etapa de poner en contacto a la persona con la composición fibrosa.
8. La composición fibrosa para su uso según la reivindicación 7, en la que la persona es un personal sanitario.
- 20 9. La composición fibrosa para su uso según la reivindicación 7, en la que la persona es un paciente.
10. Un método de producción de una composición fibrosa que comprende 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona impregnada en la composición fibrosa, comprendiendo dicho método la etapa de aplicar la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona a una tela y en el que la etapa de aplicación comprende disolver la 1-cloro-2,2,5,5-tetrametil-4-imidazolidinona en un disolvente para formar una solución.
- 25 11. El método de la reivindicación 10, en el que el disolvente es un alcohol.
12. El método de la reivindicación 11, en el que el alcohol es alcohol etílico.
13. El método de la reivindicación 11, en el que el alcohol es alcohol isopropílico.
14. El método de la reivindicación 10, en el que el disolvente es un disolvente volátil.

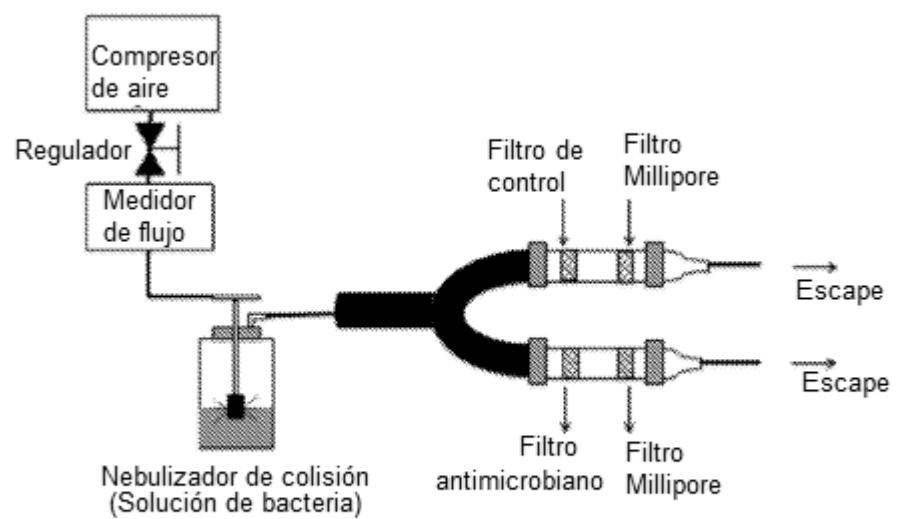


FIGURA 1