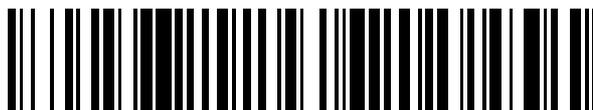


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 742**

51 Int. Cl.:

C11D 7/26 (2006.01)

C11D 3/48 (2006.01)

C11D 7/42 (2006.01)

A61L 2/18 (2006.01)

C11D 11/00 (2006.01)

C11D 3/00 (2006.01)

C11D 17/00 (2006.01)

C11D 7/34 (2006.01)

C11D 7/50 (2006.01)

C11D 3/386 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2007 E 07763784 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2052069**

54 Título: **Detergente poco espumoso**

30 Prioridad:

18.07.2006 AU 2006903863 P
07.02.2007 AU 2007900582 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.03.2014

73 Titular/es:

**NOVAPHARM RESEARCH (AUSTRALIA) PTY.
LIMITED (100.0%)
3-11 PRIMROSE AVENUE
ROSEBERY, NSW 2018, AU**

72 Inventor/es:

**KRITZLER, STEVEN y
SAVA, ALEX**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 450 742 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

Detergente poco espumoso

Campo de la invención:

5 Esta invención hace referencia a una composición que se utiliza para la limpieza en general, y para la limpieza de instrumentos médicos en particular y que es eficaz para eliminar la suciedad y para la digestión de proteínas manteniendo un nivel mínimo de espuma.

Fundamento

10 Se ha informado extensamente sobre la incidencia de las infecciones tras un proceso quirúrgico o bien de tratamiento. Se cree que un número significativo de estas infecciones se debe al reprocesamiento inadecuado de instrumentos reutilizables.

15 La limpieza de instrumentos a escala industrial engloba dos etapas. En la primera etapa el instrumento se limpia o lava y en la segunda etapa el instrumento se desinfecta siguiendo normalmente unos estándares de “desinfección de alto nivel” o “esterilización”. En general se acepta que el fracaso para limpiar adecuadamente los instrumentos tras su uso en la primera etapa puede comprometer la eficacia de la segunda etapa. La eliminación de proteínas humanas de los instrumentos representa un reto significativo. El reto es cada día más difícil ya que se han desarrollado instrumentos médicos como por ejemplo los endoscopios, que utilizan materiales que no resisten altas temperaturas ni son inertes químicamente.

20 Para la limpieza eficaz de los instrumentos médicos se debería usar un preparado eficaz para eliminar la suciedad, eficaz para la digestión de proteínas y que resistiera la espumación. Además es preciso que los productos tengan estabilidad y un periodo de vida largo.

25 Para evitar la espumación, los preparados que eliminan la suciedad utilizados en los sistemas de “reprocesamiento” de limpieza/esterilización en los hospitales han empleado mayoritariamente detergentes no espumantes altamente alcalinos. Sin embargo su uso es incompatible con las enzimas y materiales de construcción de los endoscopios flexibles. El uso de “detergentes enzimáticos” casi neutros (preparados que incluyen enzimas y detergentes) ha resultado ser relativamente eficaz para la eliminación de proteínas y seguro con los endoscopios, y permite lograr niveles aceptables de eliminación de la suciedad. Sin embargo, mientras que las enzimas en los “detergentes enzimáticos” ayudan a eliminar las proteínas, se necesitan los tensoactivos para eliminar las grasas y los carbohidratos. Debido a la incorporación de los tensoactivos, los “detergentes enzimáticos” tienden a fabricar espuma a un nivel inaceptable.

35 La espumación es un factor no deseable ya que bloquea la visualización de los instrumentos en los baños de limpieza manual, impide el acceso del líquido de lavado a la suciedad durante la limpieza manual y bloquea los chorros de agua y la circulación del líquido de lavado en los sistemas de lavado automatizados (por ejemplo, túneles de lavado). La espuma tiende a bloquear las luces de los instrumentos e impide la limpieza eficaz del interior de las mismas. Cuando se utilizan detergentes a base de enzimas en la maquinaria de reprocesamiento la espuma tiende a llenar todo el volumen y obstaculiza el ciclo de lavado al taponar los chorros y dificultar la agitación. Además dificulta la descarga de la máquina, interfiere en el drenaje adecuado de la misma y deja residuos de espuma que contienen patógenos que pueden contaminar tras los ciclos de lavado, lo que da lugar a un riesgo significativo de infección cruzada puesto que los detergentes no matan los microorganismos que desplazan de las superficies. Los instrumentos recubiertos de espuma requieren un manejo y lavado adicionales antes de ser esterilizados. Al incrementarse el trabajo, coste y tiempo adicionales el coste del consumo de agua se considera inaceptable. Multitud de normas y manuales reconocen dicho problema y advierten del uso de detergentes espumosos para la limpieza de instrumental médico (por ejemplo, AS 4187:2003 o bien AS 4815:2006).

50 Aunque se ha detectado este problema hasta la fecha no se ha resuelto satisfactoriamente. Se han utilizado dos soluciones al problema de la espumación, pero por el momento ningún método ha logrado un resultado que satisfaga las necesidades del mercado.

55 En el primer método o planteamiento se han añadido antiespumantes a la composición de limpieza o lavado pero el resultado no ha sido satisfactorio porque los antiespumantes dejan unos residuos inaceptables en los instrumentos médicos. En el segundo planteamiento se han hecho intentos por utilizar los llamados detergentes no iónicos, de “baja espumación” como los aductos de óxidos de alquileno. Estos tienden a dejar una capa poco deseable de residuo aceitoso sobre las superficies tratadas, similar a la de los antiespumantes y también producen soluciones opacas o turbias que reducen la visibilidad durante los ciclos de lavado.

60 Como consecuencia de ello las fórmulas disponibles en el mercado son inadecuadas para la limpieza o bien demasiado espumosas y por ese motivo no aptas para la limpieza de instrumentos médicos, o bien tienden a ser

inestables y poseen un periodo de vida inadecuado debido a la desnaturalización de las enzimas por los tensoactivos utilizados.

5 Cheetham (Australian Infection Control, Sept 2005, 10, 3, p103-109) ha comparado 17 detergentes líderes en el mercado, a base de enzimas y adecuados para instrumentos médicos, procedentes de ocho fabricantes (Tabla 1)

Tabla 1. Productos comparados por Cheetham
(Australian Infection Control, Sept 2005, 10, 3, p103-109)

PRODUCTO	PROVEEDOR/MFR
Cidezyme/Enxol	Johnson & Johnson
Endozyme	Ruhof
Endozyme AW plus	Medisafe
3E-zyme/Omni-zyme	Ruhof
3M Rapid Multi-Enzyme Cleaner 70500	3M
3M Rapid Multi-Enzyme Cleaner 70501	3M
3M Rapid Auto Multi-Enzyme Cleaner 70505	3M
Matrix	Whiteley Med.
Mediclean	Neodisher
Mediclean Forte	Neodisher
Medizym	Dr. Weigert
Medizyme	Whiteley Med.
Mucadont Zymaktiv	Merz
Mucapur ER	Dr. Welger
Orthozime	Ruhof
Pacer Release	Campbell Bros.
Prepzyme	Ruhof

10 Los productos se analizaban utilizando la metodología SDS-PAGE para comparar los pesos moleculares de un grupo de proteínas sanguíneas estándar antes y después de su exposición a diversos detergentes. Cheetham informaba de que la mitad de los productos analizados, cuando se utilizaban siguiendo las directrices de los fabricantes, exhibían una digestión proteínica mínima o nula, y únicamente dos de los productos (Rapid 70500 y Rapid 70501 – ambos de 3M y conocidos también como RMEC 70500 y RMEC 70501, respectivamente) aportaban un grado elevado de digestión proteínica. Cheetham no informaba sobre propiedades de espumación o estabilidad. El presente solicitante ha comprobado los dos productos que aportaban un elevado grado de digestión proteínica y ha descubierto que uno exhibe un nivel elevado de espumación mientras que el otro contiene un copolímero de bloque de óxido de alquileo y deja residuos aceitosos indeseables sobre la superficie tratada. Además, aunque ambos muestran una buena estabilidad con enzimas fácilmente inhibidas, ambos muestran una estabilidad escasa con dificultad para inhibir enzimas.

25 Además, aunque el problema se ha mencionado haciendo referencia a la limpieza de instrumentos médicos, el deseo de composiciones de limpieza capaces de eliminar la suciedad y digerir las proteínas mientras resisten la espumación no se limita al campo de la limpieza de los instrumentos médicos. Dichas propiedades, además de la estabilidad y de un periodo de caducidad largo, son deseables en aplicaciones de limpieza muy variadas.

30 Otro campo donde se requieren las composiciones de limpieza poco espumosas es el área del aire acondicionado y de la refrigeración. Por ejemplo, las cámaras de frío para alimentos frescos tienen la temperatura controlada mediante una unidad de refrigeración ajustada con ventiladores que está integrada en la cámara. Los ventiladores introducen el aire ambiental en la cámara a través de un intercambiador de calor de bobina refrigerante. El proceso de refrigeración del aire da lugar a una disminución de la humedad, quedando ésta condensada en las superficies frías del intercambiador de calor. Es bien sabido que cualquier superficie ambiental que está continuamente húmeda o recubierta de vapor acabará recubierta de una biopelícula. La biopelícula no solamente reduce la eficacia del intercambio de calor, sino que es una fuente potencial muy significativa de contaminación microbiológica de la cámara y es por tanto indeseable.

40 Actualmente existe un número limitado de métodos de eliminación de biopelículas de las bobinas de intercambio de calor. Las biopelículas pueden ser retiradas con cepillos abrasivos o agua a presión. Esto ha resultado ser problemático porque los espacios entre las aletas de refrigeración son insuficientes para permitir un cepillado eficaz y las zonas superficiales son tan amplias que el cepillado es un trabajo extremadamente pesado. El agua a presión tampoco es adecuada ya que daña las aletas refrigerantes pues están formadas por finas secciones de aluminio.

45 Alternativamente, la bobina de intercambio de calor se puede lavar con bases o ácidos fuertes. Esto resulta también problemático porque el ácido o el álcali, mientras retiran eventualmente la biopelícula causan un daño corrosivo significativo en las aletas de aluminio y los tubos de refrigeración de cobre a los que están agarrados. Esta corrosión limita seriamente la vida útil de la bobina de intercambio de calor.

5 La EP1081215A1 describe un concentrado líquido de detergente enzimático que comprende proteasa, un 18% de sulfonato de cumeno sódico y un 5% en peso de éter monoocílico de tetraetilenglicol como componentes esenciales. Adicionalmente se requieren tensoactivos como el óxido de etileno o de propileno con los alcoholes grasos que contienen 8 a 14 átomos de carbono con el fin de promover la retirada de grasas y carbohidratos.

Por consiguiente, es deseable tener agentes de limpieza eficaces no corrosivos que actúen sin producir grandes cantidades de espuma.

10 Cualquier discusión del modelo anterior a lo largo de la especificación no se debería considerar en ningún modo como admisión de que dicho modelo es ampliamente conocido o forma parte del conocimiento general en dicho campo.

15 **Objetivo de la invención**

Un objetivo de la presente invención consiste en lograr una composición mejorada para la limpieza, en particular la limpieza de instrumentos médicos, que evite o reduzca al menos algunos de los inconvenientes del modelo anterior. Un objetivo de las configuraciones preferidas de la presente invención consiste en lograr una composición para la limpieza, en particular la limpieza de instrumentos médicos que tenga poca espuma, una estabilidad de las proteínas durante el almacenamiento excelente y sea eficaz para eliminar la suciedad y para la digestión proteínica.

20 **Breve resumen de la invención**

La presente invención aporta composiciones líquidas que proporcionan unos niveles elevados de eliminación de la suciedad, exhiben una estabilidad elevada a las proteasas y minimizan la espumación a unos niveles aceptables sin dejar niveles poco deseables de residuos. Las composiciones exhiben una estabilidad de las enzimas muy elevada durante el almacenamiento.

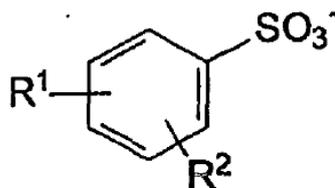
30 En un aspecto extenso, la invención proporciona un líquido para la limpieza, cuya composición excluye tensoactivos y comprende una o más enzimas que incluyen una proteasa, un sistema de disolventes que incluye un disolvente de éter glicólico soluble en agua, al menos un hidrótripo aniónico, y donde la proporción molar de dicho hidrótripo frente a dicho éter glicólico en la composición se ha elegido para preservar la actividad de una o más enzimas, tal como se define en la reivindicación 1.

35 Conforme a un primer aspecto, la invención proporciona una composición líquida para la limpieza de instrumentos médicos, excluyendo dicha composición tensoactivos y comprendiendo una o más enzimas que incluyan una proteasa, un sistema de disolventes que incluya un disolvente de éter glicólico soluble en agua, al menos un hidrótripo aniónico, y donde la proporción molar de al menos un hidrótripo frente a dicho éter glicólico en la composición se elija para preservar la actividad de una o más enzimas, tal como se define en la reivindicación 1.

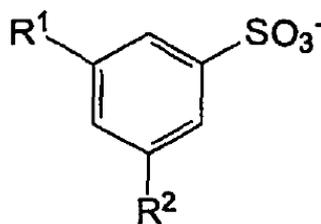
40 A menos que el contexto claramente requiera lo contrario, a lo largo de la descripción y de las reivindicaciones, las palabras "comprender", "comprendiendo", y similares hacen referencia a un sentido inclusivo opuesto a un sentido exclusivo o exhaustivo, es decir, en el sentido de "incluir, pero no limitarse a".

45 En las configuraciones preferidas la composición incluye varias enzimas de hidrolasa adicionales además de una proteasa o proteasas, donde dichas enzimas de hidrolasa incluyen pero no se limitan a las lipasas, celulasas y amilasas.

50 Es preferible que el hidrótripo sea un hidrótripo seleccionado del grupo compuesto por hidrótrips aniónicos solubles en agua de la fórmula:



55 Y más preferiblemente de la fórmula



que no tenga una cadena alquímica lateral mayor a seis átomos en longitud.

5 En los hidrótopos preferidos R¹ y R² son grupos alquilo independientes unos de otros con 1 a 6 átomos de carbono, aunque R¹ ó R² pueden ser opcionalmente un hidrógeno. Los hidrótopos preferidos tienen una cadena corta (menos de seis, y preferiblemente de uno a cuatro carbonos, y más preferiblemente de uno a dos carbonos). Los hidrótopos preferidos son las sales de sulfonato de xileno soluble en agua (R¹ es metilo, R² es metilo) y de sulfonato de cumeno (R¹ es isopropilo, R² es hidrógeno).

10 Puesto que tanto los hidrótopos aniónicos como los disolventes de éter glicólico son considerados fuertes agentes desnaturizantes proteínicos (y enzimáticos), resulta sorprendente que las composiciones conforme a la invención posean las propiedades siguientes:

- 15
- No espumante
 - Excelente estabilidad de las enzimas durante el almacenamiento
 - Excelente rendimiento de limpieza frente a la suciedad médica estándar,
 - No deja residuos no deseables

20 Conforme a la invención la proporción molar de hidrótopo: éter glicólico se elige para ser 1,1:1 o mayor. Más preferiblemente la proporción molar de hidrótopo: éter glicólico es mayor de 1,2:1 o mejor todavía es mayor de 1,5:1.

25 De acuerdo con otro aspecto la invención presenta una composición conforme al primer aspecto en un concentrado adaptado para ser diluido por al menos 20 partes de agua frente a 1 parte del concentrado (100 frente a 1000 partes de agua frente a 1 parte de concentrado en las configuraciones preferidas) y donde el hidrótopo se elige del grupo compuesto por sulfonatos aromáticos solubles en agua con una o más cadenas de alquilo laterales cortas (C1-C6).

30 De acuerdo con otro aspecto la invención presenta una composición conforme al primer aspecto donde el disolvente comprende una combinación de al menos un éter glicólico, al menos un alcohol polihídrico, y agua que contiene iones de borato o boro.

35 Conforme a otro aspecto la invención presenta una composición conforme a cualquiera de los aspectos anteriores donde cada componente de la composición se elige de manera que excluya los compuestos que incorporan una cadena alquímica de más de seis carbonos.

40 Los porcentajes de concentración son críticos para la prevención del deterioro enzimático en el almacenamiento. El porcentaje en peso del hidrótopo frente a la enzima proteolítica debería situarse entre 400:1 y 200:1, más preferiblemente 300:1 y 350:1 y la concentración del hidrótopo no debería exceder el 25%. El cociente molar de éter glicólico frente a los alcoholes polihídricos se sitúa preferiblemente entre 0,1:1 y 1:1.

45 Las composiciones de la presente invención son especialmente adecuadas para limpiar instrumentos médicos y han sido descritas principalmente con referencia a dicho uso, pero se apreciará que las composiciones de limpieza de la presente invención no están en ningún caso limitadas a dicho uso. Se pueden utilizar en cualquier circunstancia en la que se desee limpiar materia biológica de las superficies, lo que incluye aplicaciones industriales y domésticas, por ejemplo, en la limpieza de cualquier superficie húmeda contaminada con materiales proteínáceos o bien la limpieza de serpentines refrigerantes. Las composiciones de la presente invención han resultado ser especialmente eficaces para la limpieza del interior de las torres de refrigeración y las superficies de intercambio de calor del equipo de intercambio de calor que contiene agua.

50 Ejemplos

Composiciones conforme a la invención se muestran en los ejemplos 1, 2, 3. Estos difieren unos de otros básicamente en que la proporción molar del sulfonato sódico de xileno frente al éter glicólico en las composiciones es de 1,1:1, 1,2:1 y 1,6:1, respectivamente.

55 Ejemplo 1 (proporción molar de hidrótopo frente a éter glicólico 1,1:1)

ES 2 450 742 T3

Componente	% p/p preferido
Sulfonato sódico de xileno	13,8
Enzima proteolítica	0,06
Otras enzimas seleccionadas	0,02
Glicerina	4,1
Propilenglicol	12
Éter glicólico	8,9
Conservantes	0,1
Bórax	4,1
Solución de calcio al 5%	0,5
Agua	Equilibrio

Ejemplo 2 (proporción molar de hidrótopo frente a éter glicólico 1,2:1)

Componente	% p/p preferido
Sulfonato sódico de xileno	16
Proteasa	0,09
Otras enzimas seleccionadas	0,01
Glicerina	5
Propilenglicol	4
Éter glicólico	9,5
Conservantes	0,1
Bórax	2
Solución de calcio al 5%	0,5
Agua	Equilibrio

5 Ejemplo 3 (proporción molar de hidrótopo frente a éter glicólico 1,6:1)

Componente	% p/p preferido
Sulfonato sódico de xileno	15
Proteasa	0,05
Otras enzimas seleccionadas	0,02
Glicerina	6
Propilenglicol	5
Éter glicólico	6,6
Conservantes	0,1
Bórax	3
Solución de calcio al 5%	0,1

Los ejemplos 4,5 comparativos son similares al ejemplo 1 a excepción de que la proporción molar del hidrótopo frente al éter glicólico es de 1,0:1,0 en el ejemplo 4; y de 0,9:1 en el ejemplo 5.

10

Ejemplos comparativos 4 y 5

	Ejemplo comparativo 4	Ejemplo comparativo 5
Proporción de hidrótopo frente a éter glicólico	1,0:1	0,9:1
Sulfonato sódico de xileno	18	15
Proteasa	0,07	0,09
Otras enzimas seleccionadas	0,02	0,02
Glicerina	3,6	5
Propilenglicol	4	4
Éter glicólico	12,7	11,7
Conservantes	0,8	0,8
Bórax	2	6
Solución de calcio al 5%	0,5	0,5

15

En la práctica, las composiciones conforme a la invención se pueden almacenar como concentrados durante periodos de al menos 18 meses a 25°C y se deberían diluir con agua del grifo de 20:1 a 1000:1 antes de su uso.

20

La tabla 2 siguiente resume el rendimiento de las mejores composiciones evaluadas por Cheetham tal como se indica y recoge en la tabla 1. La tabla 2 compara en forma resumida 12 detergentes disponibles en el mercado en términos de estabilidad de la proteasa en almacenamiento (columnas 2 y 3), la eficacia de la retirada de la suciedad (columna 4), la altura de la espuma residual (columna 5) y la presencia de residuos potenciales. Las tres composiciones disponibles en el comercio más eficaces en términos de retirada de la suciedad fueron Cidezyme, 3M

ES 2 450 742 T3

5 Rapid 70505 y 3M 70500, las cuales tuvieron la puntuación de 10. Sin embargo, de éstas la 3M Rapid 70500 produjo una altura de espuma residual de 500 ml que es inaceptable, mientras que la 3M Rapid 7050 dejó un residuo oleico que es también inaceptable. La Cidezyme pasó la prueba de altura de espuma residual sin dejar residuo. Pero la Cidezyme falló en ambas pruebas de estabilidad en almacén de proteasas estables e inestables. En comparación las fórmulas conforme a los ejemplos 1, 2, 3 de la invención consiguieron excelentes resultados en la retirada de la suciedad y pasaron cada una de las pruebas.

Tabla 2

Detergente enzimático	Periodo de validez de la proteasa estable (Prueba A)	Periodo de validez de la proteasa inestable (Prueba B)	Prueba de eliminación de la suciedad (10=mejor;0=peor)	Prueba del volumen de espuma a 25°C	Prueba de presencia de residuos
Dr2000 NT-1	No pasa	No pasa	7	No pasa	
Orthozyme	No pasa	No pasa	3	No pasa	
Pacer Release	No pasa	No pasa	7	No pasa	
Omnizyme	No pasa	No pasa	6	pasa	pasa
Medizyme	nt	nt	6	No pasa	
Lapcholyzime	nt	nt	5	pasa	pasa
Endokleen	No pasa	No pasa	4	No pasa	
Endozyme	nt	No pasa	6	No pasa	
Endozyme AW plus	No pasa	No pasa	6	No pasa	
Cidezyme	No pasa	No pasa	10	pasa	pasa
3M Rapid Auto 70505	pasa	No pasa	10	pasa	No pasa
3M Rapid Auto 70500	pasa	No pasa	10	No pasa	Pasa
Invención Ejemplo 1	pasa	pasa	10	pasa	Pasa
Invención Ejemplo 2	pasa	pasa	10	pasa	Pasa
Invención Ejemplo 3	pasa	pasa	10	pasa	Pasa

10 La tabla 3 siguiente muestra los resultados para los ejemplos comparativos 4 y 5. Estos ejemplos difieren de los ejemplos 1 a 3 de manera que el cociente molar del hidrotropo frente al éter glicólico no se elige para preservar la actividad de una o más enzimas y es inferior a 1,0:1 y 0,9:1, respectivamente. Esto demuestra que para conseguir estabilidad para las composiciones de los ejemplos la proporción molar del hidrotropo frente al éter glicólico se debería seleccionar por encima de 1,1:1. Sin embargo, la proporción requerida para ser elegida se podría determinar para otras composiciones dentro del marco de la invención teniendo en cuenta todo lo que se ha dicho hasta ahora.

Tabla 3

Detergente enzimático	Periodo de validez de la proteasa estable (Prueba A)	Periodo de validez de la proteasa inestable (Prueba B)	Prueba de eliminación de la suciedad (10=mejor;0=peor)	Prueba del volumen de espuma a 25°C	Prueba de presencia de residuos
Ejemplo comparativo 4	No pasa	No pasa	10	pasa	Pasa
Ejemplo comparativo 5	No pasa	No pasa	10	pasa	Pasa

20 Los detalles de las pruebas utilizadas y los resultados obtenidos para preparar los datos de las tablas 2 y 3 anteriores se indican a continuación:

25 1. Prueba de retirada de la suciedad

Objetivo: Este método permite la evaluación cuantitativa y/o cualitativa de la eficacia relativa de los detergentes y limpiadores para retirar una suciedad médica simulada.

30 Las tiras indicador Browne – indicadores de comprobación de carga STF (Albert Browne Ltd Leicester UK) se han diseñado para garantizar y ayudar en la documentación de la eficacia clínica de los túneles de lavado, las cámaras

de lavado y desinfección individuales, etc... El indicador consiste en un sustrato de plástico con un parche de suciedad a base de proteínas que se aplica a ambos lados. Este simula una suciedad médica difícil de retirar. La cantidad de suciedad que queda en la tira después del tratamiento con el detergente se puede evaluar visualmente.

5 Preparación de las muestras para la prueba de retirada de la suciedad

Vasos de precipitados de 125 ml con 99±0,5 ml de agua del grifo se colocan en un baño de agua para equilibrar la temperatura requerida durante aproximadamente 30 minutos.

10 La cantidad requerida de producto de prueba/detergente de muestra se añade luego a cada vaso y se agita ligeramente. Se deja un vaso de control y a éste se añade 1 ml de agua en lugar del producto de prueba. Se deja que estas soluciones se equilibren durante unos 5 minutos hasta alcanzar una temperatura.

15 Las tiras indicador Browne STF Load Check (tira Browne) se cortan por la mitad (para tener dos tiras de prueba) y luego se añaden a cada vaso. Las dimensiones del vaso se eligen de manera que la tira se coloque en un ángulo mientras se sumerge del todo en la solución de prueba.

20 Al final del intervalo de tiempo prescrito las tiras se retiran cuidadosamente con unas pinzas asegurándose de que no se entra en contacto con el parche ensuciado a ambos lados de la tira. Las tiras se sumergen luego en agua del grifo limpia durante un momento y se cuelgan para que se sequen. Tras el secado las tiras se colocan sobre papel blanco y se fotografían para tener una evaluación visual.

Estimación del grado de suciedad retirado

25 El grado de suciedad retirado se mide generalmente en una escala de 0 a 10, siendo 0 el grado más bajo (retirada de suciedad no visible) y 10 el grado más elevado (retirada completa de la suciedad).

(b) Resultados de la retirada de la suciedad

30 Los detergentes enzimáticos de mayor disponibilidad en el mercado (según Cheetham – ver tabla 1 adjunta) se comparaban con las fórmulas conforme a la invención usando la prueba de retirada de la suciedad descrita antes con los resultados que se muestran en la tabla 4.

Tabla 4

Detergente enzimático	Prueba de retirada (10=mejor; 0=peor)
Dr2000 NT-1	7
Orthozyme	3
Pacer Release	7
Omnizyme	6
Medizyme	6
Lapcholyzime	5
Endokleen	4
Endozyme	6
Endozyme AW plus	6
Cidezyme	10
3M Rapid Auto 70505	10
3M Rapid Auto 70500	10
Invención Ejemplo 1	10
Invención Ejemplo 2	10
Invención Ejemplo 3	10
Ejemplo 4 comparativo	10
Ejemplo 5 comparativo	10

35 2. Pruebas de estabilidad de la proteasa durante el almacenamiento
 Objetivo: El método permite la comparación de los ingredientes de las fórmulas enzimáticas con respecto a su capacidad para preservar la actividad de la proteasa durante el almacenamiento. La actividad enzimática decrece con el tiempo debido a la desnaturalización proteínica y a la autoproteólisis (autodigestión). Estos procesos son acelerados dramáticamente aumentando la temperatura – el aumento de 10 grados de temperatura incrementa la velocidad de desnaturalización hasta 8 veces. La pérdida de actividad proteolítica con el tiempo se cuantifica para cada producto y expresa como porcentaje para cada fórmula.

45 Procedimiento:
 Desnaturalizar las proteasas restantes en los productos de limpieza objeto de estudio haciendo hervir ligeramente cada producto durante 2-3 minutos en un vaso de precipitados tapado.

1. Enfriar y confirmar la ausencia de actividad proteolítica usando tiras de prueba de proteasa,
2. Añadir un 10% p/P de proteasa de prueba. En la “prueba A” se utiliza una proteasa estable (Savinasa Ultra 16XL, de Novozymes). En la “prueba B” se utiliza una enzima relativamente inestable (Savinasa 16L; de Novozymes). En la práctica se utilizan en la misma valoración ambas la enzima bien estabilizada y una enzima pobremente estabilizada– por ejemplo, Savinasa Ultra 16XL y Savinasa 16L de Novozymes,
3. Dividir cada muestra preparada en tres y guardar a 4, 25 y 40°C
4. Analizar y registrar la actividad inicial de proteasa
5. Después de 14 días evaluar la actividad de la proteasa remanente de cada muestra. Informar sobre el porcentaje de pérdida de la actividad de la proteasa a cada temperatura

Una pérdida del 5% o menos de la actividad inicial de la proteasa tanto para las proteasas estables como inestables en la tabla 5 se evalúa como “pasa”.

- (b) Resultados para las pruebas de estabilidad de la proteasa estable e inestable durante el almacenamiento.

Los resultados obtenidos para cada una de las composiciones enumeradas en la tabla 4 respecto a las pruebas de estabilidad de la proteasa estable e inestable durante el almacenamiento descritas a continuación se muestran en la tabla 5.

Tabla 5

Detergente enzimático	Estabilidad de la proteasa estable durante el almacenamiento Prueba A	Estabilidad de la proteasa inestable durante el almacenamiento Prueba B
Dr2000 NT-1	29,1	51
Orthozyme	>35	>50
Pacer Release	>35	>50
Omnizyme	>35	>50
Medizyme	nt	nt
Lapcholyzime	nt	nt
Endokleen	>35	>50
Endozyme	nt	>50
Endozyme AW plus	>35	>50
Cidezyme	21,1	38,9
3M Rapid Auto 70505	<5	11,5
3M Rapid Auto 70500	<5	12,5
Invencción Ejemplo 1	<5	<5
<5	<5	<5
Invencción Ejemplo 3	>5	<5
Ejemplo 4 comparativo	22,4	12,1
Ejemplo 5 comparativo	19,5	16,1
Ejemplo 6 comparativo	6	11,9
nt = no analizado		

3. Prueba del volumen de espuma y pruebas de la presencia de residuos

Principio (volumen de espuma)

Se determinaba un aumento en el volumen de espuma mezclando durante 30 segundos usando un mezclador o amasador comercial habitual con una jarra de vidrio a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, agitando a aprox. 6000 rpm, y luego midiendo el aumento en el volumen total del fluido de prueba incluyendo la espuma.

Aparato

Mezclador: Se ha utilizado un mezclador comercial Moulinex. La jarra de vidrio estaba graduaba en volumen (marcas de 20-25 ml).

Procedimiento (volumen de espuma)

1. Limpiar y enjuagar el mezclador con agua destilada usando mezclas de 10 s y muestras nuevas de agua destilada hasta que la mezcla se lleve a cabo sin espuma apreciable. Si la espuma persiste, limpiar con alcohol, seguido de al menos tres enjuagues con agua destilada.
2. Utilizar las diluciones recomendadas por el fabricante y preparar 500 ml de solución

3. Verter el líquido de prueba en un frasco o jarra de cristal limpio y guardarlo a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante un mínimo de 1 hora y un máximo de 2 horas en un baño de agua a temperatura constante suficientemente profundo para que el nivel de agua sea al menos de 10 mm por encima de la interfase de aire/fluido de prueba.
4. Verter el líquido de prueba en la jarra de mezcla
5. Medir y registrar el volumen del líquido de prueba, independientemente de la espuma. Llamar a este el volumen inicial I.
6. Mezclar durante 30 ± 1 s a la velocidad seleccionada.
7. Cerrar el mezclador y medir inmediatamente el volumen total incluyendo la espuma. Restar el volumen inicial de la solución (I) y registrarlo como volumen de espuma.

Una altura de volumen residual inferior a 100 se acepta como "pasa".

Prueba de presencia de residuos

Objetivo: Registrar los residuos de aceite, si existe alguno

Método: Los residuos de aceite se pueden observar fácilmente sobre portas de vidrio usando un microscopio de disección e iluminación lateral.

Los portaobjetos de vidrio de un microscopio previamente limpiado se sumergían en un detergente enzimático diluido y luego se lavaban suavemente sumergiendo el portaobjetos en un vaso de precipitados con agua destilada. Se dejaba que el portaobjetos goteara y se seca antes de analizar la presencia de residuos.

Cualquier residuo detectable es "fallo o no pasa". Si no se detecta residuo aparece "pasa"

(b) Resultados para las pruebas del volumen de espuma residual y de la presencia de residuos

Los resultados obtenidos para cada una de las composiciones enumeradas en la tabla 4 con respecto a la prueba del volumen de espuma y la prueba de la presencia de residuos anterior se muestran en la tabla 6:

Tabla 6

Detergente enzimático	Prueba de espuma residual	Prueba de detección de residuos
Dr2000 NT-1	>500	No pasa
Orthozyme	100	Pasa
Pacer Release	350	Pasa
Omnizyme	<25	Pasa
Medizyme	150	Pasa
Lapcholyzime	<25	Pasa
Endokleen	200	No pasa
Endozyme	175	
Endozyme AW plus	200	
Cidezyme	<25	Pasa
3M Rapid Auto 70505	<25	No pasa
3M Rapid Auto 70500	>500	Pasa
Invencción Ejemplo 1	<25	Pasa
Invencción Ejemplo 2	<25	Pasa
Invencción Ejemplo 3	<25	Pasa
Ejemplo 4 comparativo	<25	Pasa
Ejemplo 5 comparativo	<25	Pasa
Ejemplo 6 comparativo	<25	Pasa

Con ayuda de más ejemplos, las figuras 1-4 adjuntas ilustran las diferencias en las propiedades de espumación/residuo. Las figuras 1-4 simulan procedimientos de uso normal en los cuales un concentrado se mide en un recipiente y luego se añade la cantidad de agua requerida. El resultado es fotografiado sin agitar.

La figura 1 muestra los instrumentos médicos en un recipiente lleno de 3M Rapid Multi enzyme Cleaner 70500 – uno de los dos mejores detergentes en el estudio Cheetham. Los instrumentos son difícilmente visibles debido a la espuma.

La figura 2 muestra el mismo producto (3M Rapid Multi enzyme Cleaner 70500) en un vaso de precipitados con un volumen estable de espuma sobre el líquido.

La figura 3 muestra el otro de los dos mejores detergentes (3M Rapid 70505). Un residuo lechoso visible y poco deseable se observa suspendido en el líquido turbio.

La figura 4 corresponde a la figura 1 cuando se emplea una composición conforme a la invención (ejemplo 2).

En las composiciones a modo de ejemplo las proporciones de hidrótopo frente a proteasa y de DPM frente a los alcoholes polihídricos para cada una de las composiciones se muestran en la tabla 7.

Tabla 7

5

Composición	Proporción de hidrolasa frente a proteasa	Proporción de DPM frente a alcoholes polihídricos
Ejemplo 1	230:1	0,3
Ejemplo 2	177:1	0,6
Ejemplo 3	300:1	0,34
Ejemplo comparativo 4	257:1	0,93
Ejemplo comparativo 5	166:1	0,73

Ejemplo 7 – Limpieza del intercambiador de calor

10

Las composiciones poco espumantes de la presente invención se utilizaban para limpiar un intercambiador de calor. Se empleaba un proceso de dos etapas.

15

En primer lugar el intercambiador de calor se pulverizaba con el detergente enzimático de la presente invención tal como se describe en los ejemplos 1-3 anteriores. El detergente enzimático se diluye normalmente en una proporción de 50 partes de agua por 1 parte de detergente enzimático, para los intercambiadores de calor muy sucios, y hasta 100 partes de agua frente 1 parte de detergente enzimático para los intercambiadores de calor con menor suciedad.

20

Se deja que el detergente empape la superficie contaminada para penetrar y digerir la materia biológica. El periodo de empapación oscila entre 10 y 20 minutos dependiendo de la profundidad de la suciedad en las superficies del intercambiador de calor.

25

En segundo lugar, el intercambiador de calor se pulveriza con agua a baja presión para retirar los contaminantes digeridos sin dañar físicamente las aletas. Los contaminantes digeridos se retiran fácilmente cuando la obstrucción por la espuma de los serpentines es mínima.

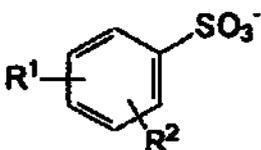
30

Este proceso contrastaba con una limpieza con una preparación enzimática convencional que tiene una propensión a formar espuma de forma considerable durante esta fase de pulverización. La espuma suspende las partículas contaminantes y esconde las zonas que requieren otro pulverizado.

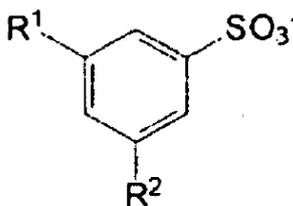
Por lo tanto el uso de un preparado enzimático muy poco espumoso o nada espumoso ha resultado ser una gran ventaja.

REIVINDICACIONES

1. Composición líquida para la limpieza, en la que la composición no incluye tensoactivos pero si una o más enzimas que incluyen una proteasa, un sistema disolvente que incluye un disolvente a base de éter glicólico soluble en agua, al menos un hidrotropo aniónico, y en la que la proporción molar del hidrotropo mencionado con respecto al éter glicólico en la composición se elige igual a 1,1:1 o bien mayor y donde cada componente de la composición se elige de manera que se excluyen los compuestos que incorporan una cadena alquílica de más de seis carbonos.
2. Composición líquida conforme a la reivindicación 1, en la que la composición incluye varias enzimas de hidrolasa adicionales además de una proteasa o de varias proteasas, donde las enzimas de hidrolasa incluyen pero no se limitan a lipasas, celulasas y amilasas.
3. Composición líquida conforme a la reivindicación 1 ó 2, en la que el hidrotropo es un hidrotropo aniónico, elegido del grupo compuesto por hidrotropos aniónicos solubles en agua de fórmula:



preferiblemente



4. Composición líquida conforme a cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que R^1 y R^2 pueden ser opcionalmente hidrógeno.
5. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, en la que R^1 y R^2 tienen una cadena de uno hasta cuatro átomos de carbono, preferiblemente de uno hasta dos átomos de carbono.
6. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, en la que el hidrotropo es una sal de sulfonato de xileno o de sulfonato de cumeno.
7. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, en la que la proporción molar del hidrotropo respecto al éter glicólico se elige de manera que es mayor a 1,2:1 y preferiblemente mayor a 1,5:1.
8. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores en un concentrado adaptado para ser diluido para el uso en al menos 20 partes de agua respecto a una parte de concentrado (100 a 1000 partes de agua respecto a una parte de concentrado en las configuraciones preferidas) y donde el hidrotropo se elige del grupo que comprende sulfonatos aromáticos solubles en agua con una o más cadenas de alquilo laterales cortas (C1-C6).
9. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, en la que el disolvente en combinación con al menos un éter glicólico, comprende al menos un alcohol polihídrico y agua que contiene iones de boro y de borato.
10. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, en la que la concentración de hidrotropo no excede un 25%.
11. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, en la que la proporción molar del éter glicólico respecto al alcohol polihídrico se encuentra entre 0,2:1 y 1:1.
12. Composición líquida conforme a una de las reivindicaciones anteriores, formulada para el uso como detergente médico, detergente industrial o bien para su uso en la limpieza de serpentines refrigerantes.

13. Método de limpieza de un dispositivo que es un instrumento médico o bien un componente del aire acondicionado, de manera que ambos se necesitan, que comprende la etapa de puesta en contacto de dicho dispositivo con una composición conforme a una de las reivindicaciones 1 a 12.

5

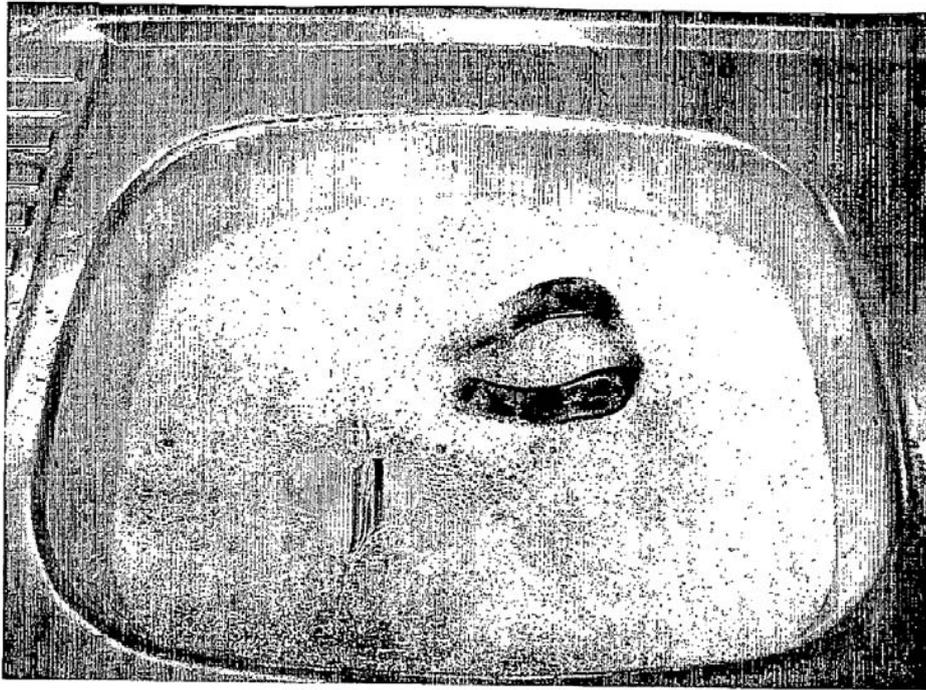


Figura 1 (modelo anterior)

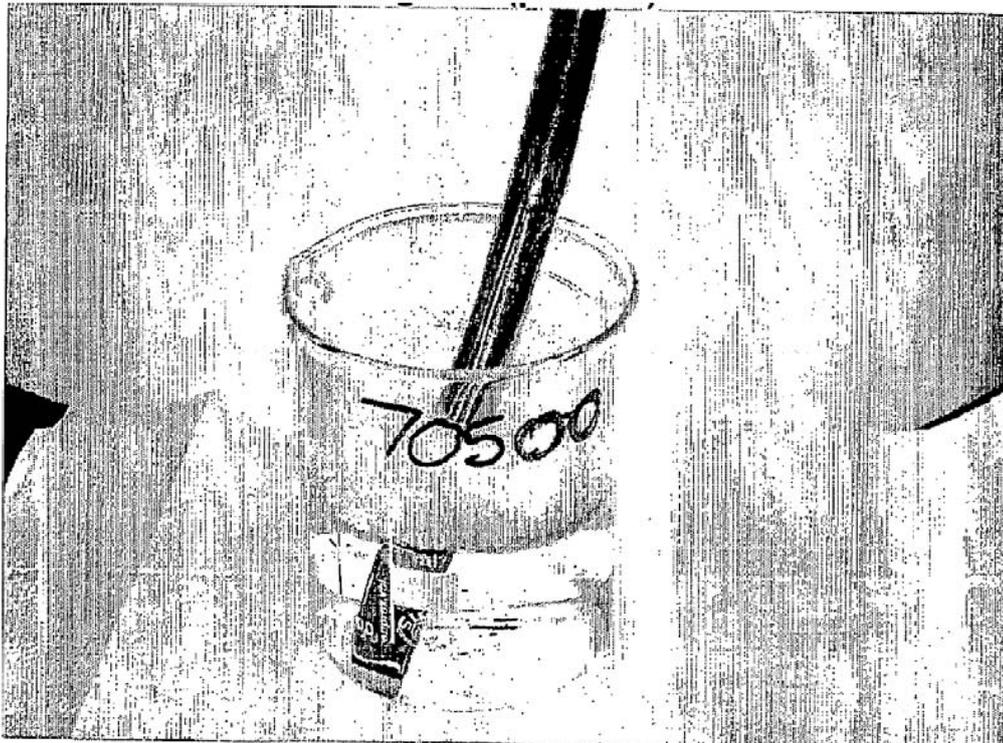


Figura 2 (modelo anterior)

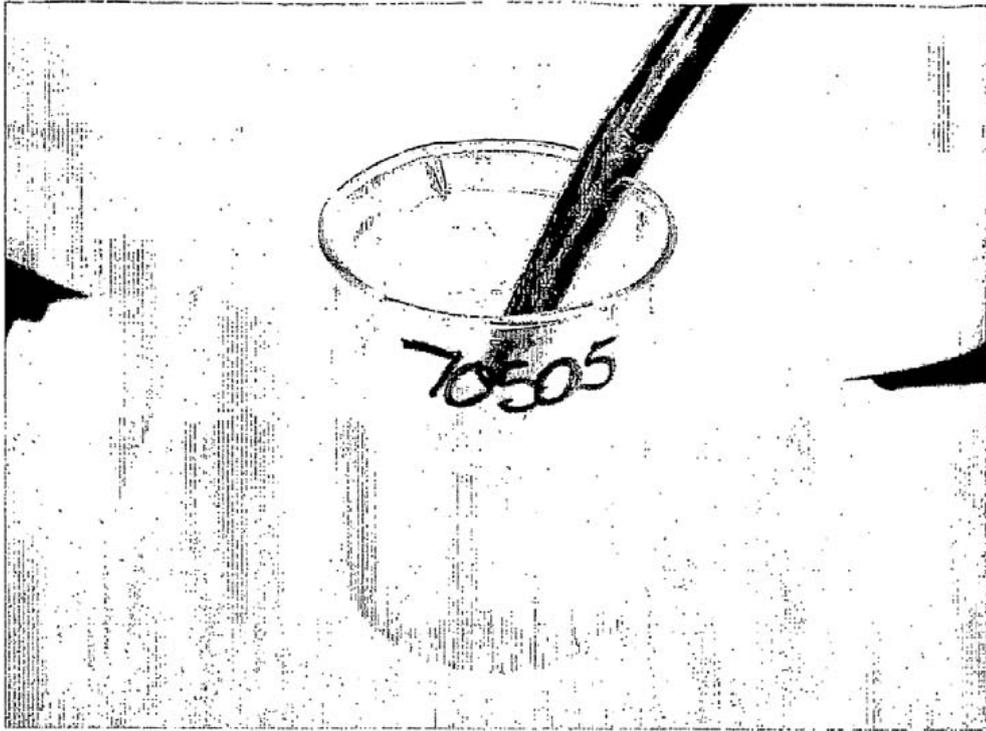


Figura 3 (modelo anterior)

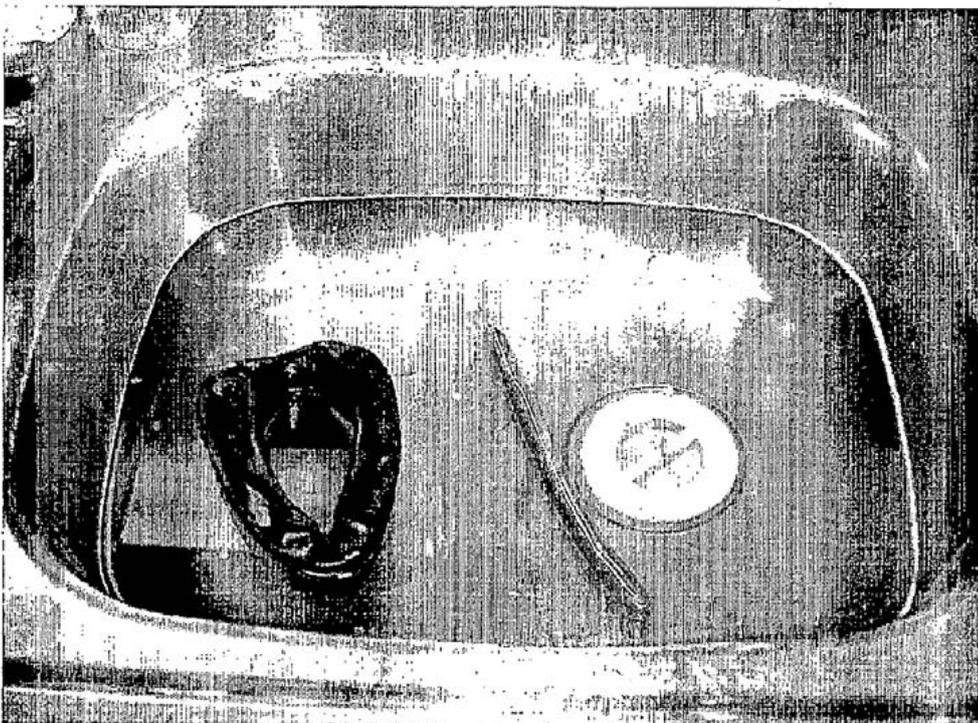


Figura 4 (invención)