

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 085**

51 Int. Cl.:

A01N 37/36 (2006.01)

A01N 47/44 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.11.2010 E 10792817 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2016 EP 2503883**

54 Título: **Composición de desinfectante**

30 Prioridad:

24.11.2009 EP 09014610

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

06.05.2016

73 Titular/es:

**FRESENIUS MEDICAL CARE DEUTSCHLAND
GMBH (100.0%)
Else-Kröner-Strasse 1
61352 Bad Homburg v.d.H., DE**

72 Inventor/es:

KIRSCHNER, ULRICH

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 569 085 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

Composición de desinfectante

Campo de la invención

5 La invención se refiere al uso de una composición de desinfectante como disolución de sellado de catéteres, en la que la composición es una disolución y (i) comprende una combinación de ácido cítrico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo como componente (A) y polihexametilenbiguanida (PHMB) o una sal fisiológicamente aceptable de la misma como componente (B), en la que los componentes (A) y (B) están presentes en una cantidad que muestra un efecto antimicrobiano sinérgico; y en la que la composición de desinfectante muestra una activación sinérgica de su actividad bacteriostática y fungistática siempre en presencia de carga orgánica (proteína y sangre),
10 preferiblemente (ii) una reducción logarítmica de *Staphylococcus aureus* de al menos 4,0 tras un tiempo de contacto de 5 minutos según la norma DIN EN 13727. La invención se refiere al uso de dicha composición para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas y formación de biopelícula en catéteres.

Técnica anterior

15 La prevención y/o la reducción y/o eliminación y/o erradicación eficaces de contaminaciones, por ejemplo de contaminaciones microbianas tales como contaminaciones bacterianas, sigue siendo un gran reto en el campo de la medicina y la atención sanitaria. Estas contaminaciones pueden surgir sobre la superficie o en el interior de objetos, por ejemplo de productos médicos y de atención sanitaria tales como catéteres, en fluidos usados conjuntamente con estos productos, y en seres humanos y animales.

20 Los desinfectantes comúnmente usados, es decir agentes antimicrobianos que inhiben, reducen, eliminan y/o erradican microbios tales como bacterias incluyen por ejemplo disoluciones alcohólicas. Sin embargo, estas disoluciones tienen que aplicarse habitualmente a altas concentraciones y, por tanto, no pueden administrarse más que de manera tópica.

25 Otros desinfectantes o composiciones de desinfectante conocidas en el estado de la técnica se dan a conocer por ejemplo en los documentos EP 0 180 309 A1, EP 0 265 202 A2, EP 0 456 467 A2, WO 2004/093545 A1 y WO 2005/115 487 A1 y pueden incluir entre otros o bien ácido cítrico (o una sal del mismo) o bien polihexametilenbiguanida (PHMB), que es un desinfectante de amplio espectro conocido en el estado de la técnica.

30 Una variedad de procedimientos y estados médicos requieren la administración y/o retirada de fluidos a animales y seres humanos. Los catéteres proporcionan un fácil acceso para la administración a corto o largo plazo de estos fluidos tales como nutrientes, fármacos, electrolitos, etc. mediante infusión, y además para la extracción de sangre o la retirada de orina.

35 Puesto que la implantación y la retirada de un catéter es un procedimiento doloroso para el paciente y, además, debido a un posible traumatismo en la zona de inserción del catéter, los catéteres, especialmente los que tienen que permanecer implantados durante un periodo de tiempo más largo (por ejemplo, para diálisis), no pueden retirarse y renovarse frecuentemente.

40 Tras su uso, el catéter se lava habitualmente con una solución salina y luego se llena con una "disolución de sellado de catéteres" que contiene un agente que tiene propiedades anticoagulantes tras lavado que permanece en el catéter durante periodos en los que no se usa con el fin de "sellar" el catéter, es decir impedir que se coagule sangre en el interior y para garantizar que no retroceda sangre al interior del catéter. Disoluciones de sellado de catéteres usadas de manera convencional son disoluciones que contienen heparina. Sin embargo, además de su actividad anticoagulante, la heparina no tiene actividad antimicrobiana.

45 Los catéteres, especialmente los implantados durante un uso de larga duración, y especialmente el interior de los catéteres, son una posible fuente de contaminación puesto que un catéter puede proporcionar un acceso directo al torrente sanguíneo de un paciente. Por tanto, es necesario que la disolución de sellado de catéteres contenga un agente adicional que presente propiedades antimicrobianas en una cantidad antimicrobiana eficaz. Además, puesto que pueden crecer microbios sobre la superficie foránea de un catéter implantado produciendo un depósito, es decir una "biopelícula" que puede proteger a su vez a los microbios dentro de esa película, especialmente bacterias dentro de una capa más profunda de la biopelícula, es necesario que el agente antimicrobiano no sólo pueda destruir los microbios en flotación libre en la disolución, sino que también pueda penetrar en el depósito con el fin de destruir
50 estos microorganismos en las capas más profundas e impedir la formación de tales biopelículas, respectivamente.

Staphylococcus aureus desempeña un papel fundamental en enfermedades e infecciones bacterianas. Puede provocar una gama de enfermedades desde infecciones menores de la piel, tales como impétigo, granos, forúnculos,

- ántrax, síndrome de piel escaldada y abscesos, hasta enfermedades potencialmente mortales tales como meningitis, neumonía, endocarditis, osteomielitis, síndrome de choque tóxico (TSS) y septicemia. Su incidencia es desde infecciones de la piel, tejidos blandos, respiratorias, de huesos, de articulaciones, endovasculares hasta de heridas. Es todavía una de las cinco causas más comunes de infecciones intrahospitalarias, provocando a menudo infecciones de heridas posquirúrgicas.
- Recientemente, ha habido un sinnúmero de casos notificados de *S. aureus* en hospitales por todo el mundo. El patógeno ha tenido un transporte facilitado en instalaciones médicas principalmente debido a una higiene insuficiente de los profesionales sanitarios. La bacteria puede transportarse por sí misma en las manos de los profesionales sanitarios que, por ejemplo, adquieren las bacterias de un paciente aparentemente sano que porta una cepa del patógeno y entonces contagia al siguiente paciente que están atendiendo. La introducción de la bacteria en el torrente sanguíneo puede conducir a diversas complicaciones incluyendo, pero sin limitarse a, endocarditis, meningitis y, si se extiende, septicemia, infectando las toxinas todo el cuerpo.
- Los hongos, por ejemplo *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, también desempeñan un papel significativo en las infecciones. La candidiasis invasiva incluye candidemia, candidiasis diseminada con afectación de órganos internos, endocarditis y meningitis. La candidiasis invasiva tiene una mortalidad atribuible del 40% al 50% y está notificándose cada vez más en unidades de cuidados intensivos. *Candida albicans* y cepas que no son de tipo *albicans* son ambas responsables de las infecciones, en las que se necesita especialmente que los tratamientos empíricos y dirigidos sean inicialmente apropiados.
- En los documentos WO 00/10385, WO 2006/086250 y WO 2008/019083, se han propuesto como desinfectante disoluciones de sellado de catéteres que contienen una sal de citrato como agente antimicrobiano. Estas disoluciones pueden comprender agentes adicionales que tienen propiedades antimicrobianas tales como parabeno, gentamicina o vancomicina.
- También se conoce en el estado de la técnica una disolución de sellado de catéteres que comprende una combinación de taurolidina, ácido cítrico y citrato de sodio (comúnmente conocida como Taurolock™).
- En el documento US 2009/0170947 A1, se da a conocer una disolución de sellado de catéteres que contiene una combinación de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y polihexametilenbiguanida (PHMB).
- El documento EP 1 943 302 A2 da a conocer un sustrato de material que tiene al menos parte de una superficie tratada con una composición antimicrobiana. La composición antimicrobiana muestra una reducción de al menos 3 log 10 UFC en el plazo de aproximadamente 30 minutos tras el contacto con diversas especies de un amplio espectro de microorganismos.
- El documento US 5 576 006 A da a conocer complejos de compuestos antifúngicos o antimicrobianos que tienen al menos un sitio que es un amonio cuaternario, una amina, una mezcla de los mismos, o las sales de los mismos. Los complejos son útiles en composiciones para desodorizar y/o impedir el crecimiento de microbios u hongos que provocan olor. Las composiciones son particularmente útiles para desodorizar calzado.
- El documento US 5 700 742 A se refiere al tratamiento antimicrobiano de material textil con una biguanida oligomérica o polimérica y un ácido orgánico fuerte que tiene un valor de pK por debajo de 4,5.
- El documento EP 0 707 794 A da a conocer una composición de desinfectante que contiene alcohol etílico con una concentración no inferior al 50% en peso, clorhexidina y un ácido orgánico.
- El documento US 2003/096722 A1 se refiere a un procedimiento de desinfección y/o limpieza de una superficie dura con una composición que comprende un agente antimicrobiano de biguanida, un aceite esencial o un agente activo del mismo y un ácido orgánico o una sal del mismo mediante lo cual se proporcionan beneficios de desinfección inmediatos y/o de larga duración.
- El documento US 2007/098813 A1 se refiere a una disolución oftálmica que incluye del 0,00001 a aproximadamente el 3,0 por ciento en peso de un agente que produce peróxido y de 0,1 a 500 partes por millón de un conservante.
- El documento EP 1 688 154 A1 se refiere a composiciones, métodos, dispositivos y kits relacionados con la infusión de una disolución de sellado de catéteres dentro de un catéter permanente. Las composiciones, los métodos, los dispositivos y los kits ayudan a disminuir los efectos de la infección microbiana en catéteres y la oclusión de los catéteres. Una disolución de sellado incluye citrato y un parabeno. La disolución tiene preferiblemente una densidad adecuada para la retención de la disolución en un catéter durante el periodo de sellado. Otra disolución de sellado incluye citrato, un parabeno y un fotooxidante, tal como, por ejemplo, azul de metileno.
- El documento WO 2009/085318 A1 da a conocer composiciones de desinfectante que comprenden sal(es) de EDTA

y PHMB. Las composiciones de desinfectante han demostrado también actividad como disoluciones de sellado/lavado de acción rápida, potenciada. Son seguras para usos médicos y en seres humanos y pueden usarse como preparaciones profilácticas para prevenir la infección, o para reducir la proliferación de y/o eliminar infecciones existentes o establecidas.

5 Existe la necesidad de composiciones de desinfectante mejoradas tales como disoluciones de sellado de catéteres, que tengan ventajas con respecto a composiciones de desinfectante de la técnica anterior, particularmente con respecto a su eficacia antimicrobiana incluyendo su capacidad para penetrar en o impedir la formación de biopelículas, así como un perfil de citotoxicidad bajo, con el fin de prevenir y/o reducir y/o eliminar y/o erradicar contaminaciones microbianas, particularmente de *Staphylococcus aureus*. En lo que se refiere a los catéteres, existe la necesidad particular de disoluciones de sellado de catéteres que muestren rápidamente su efecto antimicrobiano, por ejemplo su efecto de erradicación frente a *S. aureus*. El aspecto temporal es de particular relevancia, porque en determinados casos es necesario que los catéteres se reutilicen frecuentemente, por ejemplo tras cambiar la disolución de infusión y similares.

15 Por tanto, era un objeto de la invención proporcionar composiciones de desinfectante que pudieran prevenir y/o reducir y/o eliminar y/o erradicar contaminaciones microbianas en productos médicos de atención sanitaria, y particularmente en catéteres, composiciones que tuviesen ventajas con respecto a la técnica anterior. Era un objeto adicional de la invención proporcionar disoluciones de sellado de catéteres que tuvieran ventajas en comparación con disoluciones de sellado de catéteres de la técnica anterior.

20 En particular, era un objeto encontrar composiciones de desinfectante, preferiblemente disoluciones de sellado de catéteres, que mostraran un efecto antimicrobiano y, por ejemplo, que inhibieran el crecimiento de biopelículas y/o que pudieran penetrar en las biopelículas con el fin de erradicar los microbios de dichas biopelículas. Era un objeto adicional encontrar composiciones de desinfectante que fueran al menos tan eficaces desde el punto de vista antimicrobiano como las composiciones de desinfectante conocidas de la técnica anterior, pero que mostrasen un perfil de citotoxicidad menos pronunciado.

25 Estos objetos se han solucionado mediante el contenido de las reivindicaciones de la patente.

Sumario de la invención

La invención se refiere al uso de una composición de desinfectante, que es una disolución

(i) que comprende una combinación de componentes

(A) ácido cítrico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, y

30 (B) polihexametilenbiguanida o una sal fisiológicamente aceptable de la misma;

en la que los componentes A y B están presentes en una cantidad que muestra un efecto antimicrobiano sinérgico; y

(ii) preferiblemente que muestra adicionalmente una reducción logarítmica de *Staphylococcus aureus* de al menos 4,0 tras un tiempo de contacto de 5 minutos según la norma DIN EN 13727;

y/o

35 preferiblemente que inhibe adicionalmente el crecimiento de bacterias y/u hongos, preferiblemente de *S. aureus* y/o *C. albicans*

como disolución de sellado de catéteres.

40 Se ha encontrado sorprendentemente que la presencia de los componentes (A) y (B) en una cantidad antimicrobiana eficaz da como resultado un efecto antimicrobiano sinérgico de la composición de desinfectante de la invención. Por tanto, la composición de desinfectante usada en la invención es eficaz para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas en catéteres (remítase al ejemplo 2).

Este efecto beneficioso se logra en un periodo de tiempo sorprendentemente corto.

45 Además, se ha encontrado sorprendentemente que la composición de desinfectante usada en la invención muestra incluso un efecto sinérgico frente al crecimiento de hongos tales como *C. albicans* (ejemplo 4). Esto es particularmente sorprendente ya que el ácido cítrico o su sal fisiológicamente aceptable normalmente no muestran tal acción.

Todavía adicionalmente, se ha encontrado sorprendentemente que la composición de desinfectante usada en la invención es menos citotóxica que las composiciones de desinfectante comúnmente usadas (remítase al ejemplo 3).

Descripción detallada de la invención

Un primer aspecto de la invención se refiere al uso de una composición de desinfectante, que es una disolución

5 (i) que comprende una combinación de componentes

(A) ácido cítrico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, y

(B) polihexametilenbiguanida o una sal fisiológicamente aceptable de la misma;

en la que los componentes (A) y (B) están presentes en una cantidad que muestra un efecto antimicrobiano sinérgico;

10 y/o

(ii) preferiblemente que presente adicionalmente una reducción logarítmica de *Staphylococcus aureus* de al menos 4,0 tras un tiempo de contacto de 5 minutos según la norma DIN EN 13727;

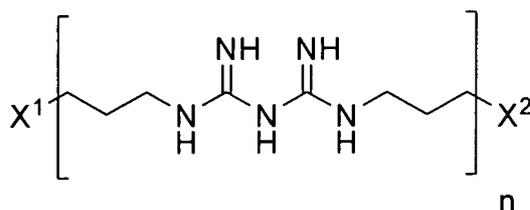
y/o

15 preferiblemente que inhibe adicionalmente el crecimiento de bacterias y/u hongos, preferiblemente de *S. aureus* y/o *C. albicans*

como disolución de sellado de catéteres.

20 “Polihexametilenbiguanida” (comúnmente abreviada como PHMB), también conocida como poliaminopropilbiguanida (PAPB), es un desinfectante conocido en el estado de la técnica. Dicho término también incluye sales fisiológicamente aceptables de polihexametilenbiguanida. PHMB está por ejemplo disponible comercialmente como clorhidrato de polihexametilenbiguanida (también conocido como “polihexanida”) en una disolución acuosa que tiene una concentración de polihexanida de aproximadamente el 20%, es decir que tiene una concentración de polihexanida de al menos el 19% y como máximo el 21%. Se comercializa por ejemplo con los nombres de Cosmocil™ CQ y Cosmocil™ PG por Arch Chemicals.

25 Según la presente invención, el término “polihexametilenbiguanida” se refiere preferiblemente a al menos un compuesto según la fórmula general (I) o una sal fisiológicamente aceptable del mismo como componente (B) de la composición de desinfectante,



(I),

en la que

n es un número entero de desde 1 hasta 500, y

30 X¹ y X² se seleccionan independientemente entre sí del grupo que consiste en

5 componente (A) en una cantidad del 0,1% en peso al 15% en peso, más preferiblemente en una cantidad del 0,5% en peso al 10% en peso, todavía más preferiblemente en una cantidad del 1% en peso al 8% en peso, incluso más preferiblemente en una cantidad del 2% en peso al 6% en peso, particularmente en una cantidad del 3% en peso al 5% en peso, tal como se describe para citrato de sodio al 4% de acuerdo con la monografía de la USP "Disolución anticoagulante de citrato de sodio".

10 En otra realización preferida de la presente invención, la composición de desinfectante es una disolución que contiene el componente (A) en una cantidad como máximo del 15% en peso, preferiblemente como máximo del 12% en peso, más preferiblemente como máximo del 10% en peso, todavía más preferiblemente como máximo del 8% en peso, incluso más preferiblemente como máximo del 6% en peso, en particular como máximo del 5% en peso, y lo más preferido como máximo del 4,5% en peso, en cada caso en relación con el peso total de la disolución.

15 En todavía otra realización preferida, la composición de desinfectante es una disolución que contiene el componente (A) en una cantidad del $2,9 \pm 2,5\%$ en peso, preferiblemente del $2,9 \pm 2,0\%$ en peso, más preferiblemente del $2,9 \pm 1,5\%$ en peso, todavía más preferiblemente del $2,9 \pm 1,0\%$ en peso, incluso más preferiblemente del $2,9 \pm 0,5\%$ en peso, en particular del $2,9 \pm 0,2\%$ en peso, y lo más preferido del $2,9 \pm 0,1\%$ en peso, en cada caso en relación con el peso total de la disolución.

20 En aún otra realización preferida, la composición de desinfectante es una disolución que contiene el componente (A) en una cantidad del $3,9 \pm 3,5\%$ en peso, preferiblemente del $3,9 \pm 3,0\%$ en peso, más preferiblemente del $3,9 \pm 2,5\%$ en peso, todavía más preferiblemente del $3,9 \pm 2,0\%$ en peso, incluso más preferiblemente del $3,9 \pm 1,5\%$ en peso, en particular del $3,9 \pm 1,0\%$ en peso, y lo más preferido del $3,9 \pm 0,5\%$ en peso, en cada caso en relación con el peso total de la disolución.

25 En una realización adicional preferida, la composición de desinfectante es una disolución y contiene el componente (A) en una cantidad del $3,4 \pm 3,0\%$ en peso, preferiblemente del $3,4 \pm 2,5\%$ en peso, más preferiblemente del $3,4 \pm 2,0\%$ en peso, todavía más preferiblemente del $3,4 \pm 1,5\%$ en peso, incluso más preferiblemente del $3,4 \pm 1,0\%$ en peso, en particular del $3,4 \pm 0,7\%$ en peso, y lo más preferido del $3,4 \pm 0,5\%$ en peso, en cada caso en relación con el peso total de la disolución.

30 También son posibles mayores concentraciones del componente (A), particularmente cuando la composición de desinfectante que va a usarse en la invención se proporciona como un concentrado que ha de diluirse antes de su uso. En este sentido, se prefieren concentraciones del componente (A) de hasta el 40% en peso, preferiblemente el $30 \pm 25\%$ en peso, el $30 \pm 20\%$ en peso, el $30 \pm 15\%$ en peso, el $30 \pm 10\%$ en peso, el $30 \pm 5\%$ en peso; el $25 \pm 20\%$ en peso, el $25 \pm 15\%$ en peso, el $25 \pm 10\%$ en peso, el $25 \pm 5\%$ en peso; el $20 \pm 15\%$ en peso, el $20 \pm 10\%$ en peso, el $20 \pm 5\%$ en peso; el $15 \pm 10\%$ en peso o el $15 \pm 10\%$ en peso.

Preferiblemente, el componente (B) de la composición de desinfectante usada en la invención es al menos un compuesto según la fórmula general (I) o una sal fisiológicamente aceptable del mismo.

35 En una realización preferida, el componente (B) tiene un peso molecular promedio M_w de al menos 500 g/mol, preferiblemente de al menos 1.000 g/mol, más preferiblemente de al menos 1.500 g/mol, particularmente de al menos 2.000 g/mol, incluso más particularmente de al menos 2.500 g/mol.

En otra realización preferida, el componente (B), tiene un peso molecular promedio M_w como máximo de 100.000 g/mol, preferiblemente como máximo de 50.000 g/mol, más preferiblemente como máximo de 15.000 g/mol, particularmente como máximo de 10.000 g/mol, incluso más particularmente como máximo de 5.000 g/mol.

40 En aún otra realización preferida, el componente (B), tiene un peso molecular promedio en peso M_w en el intervalo de 500 g/mol a 50.000 g/mol, preferiblemente en el intervalo de 1.000 g/mol a 30.000 g/mol, más preferiblemente en el intervalo de 1.500 g/mol a 10.000 g/mol, incluso más preferiblemente en el intervalo de 2.000 g/mol a 5.000 g/mol.

45 Preferiblemente, el número entero n según la fórmula general (I) está en el intervalo de desde 1 hasta 500, preferiblemente de 2 a 400, más preferiblemente, de 3 a 300, todavía más preferiblemente de 4 a 200, incluso más preferiblemente de 5 a 100, particularmente de 6 a 50, más particularmente de 7 a 30, todavía más particularmente de 8 a 20, e incluso más particularmente de 9 a 15.

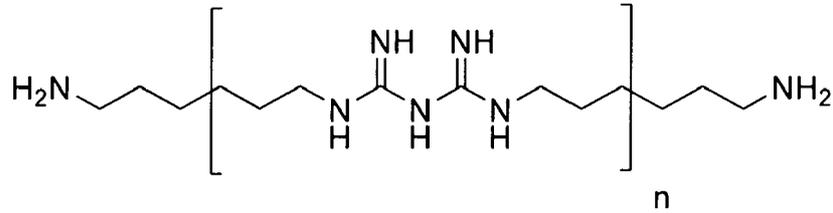
En otra realización preferida, al menos uno de X^1 y X^2 , preferiblemente tanto X^1 como X^2 , según la fórmula general (I) indica(n) el radical (X-I).

50 En aún otra realización preferida, al menos uno de X^1 y X^2 , preferiblemente tanto X^1 como X^2 , según la fórmula general (I) indica(n) el radical (X-II).

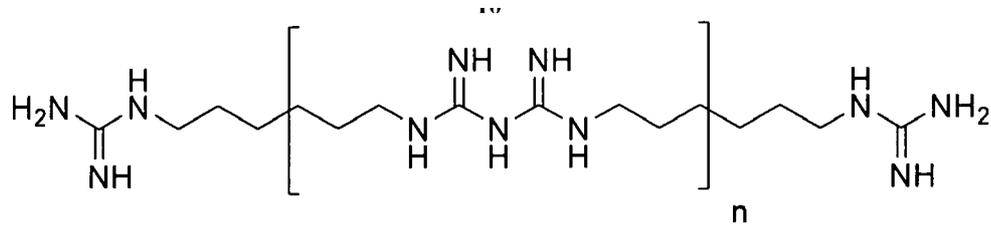
En todavía otra realización preferida, al menos uno de X^1 y X^2 , preferiblemente tanto X^1 como X^2 , según la fórmula general (I) indica(n) el radical (X-III).

En una realización preferida de la presente invención, la composición de desinfectante contiene al menos uno de los siguientes compuestos según la fórmula general (I) como componente (B) o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos:

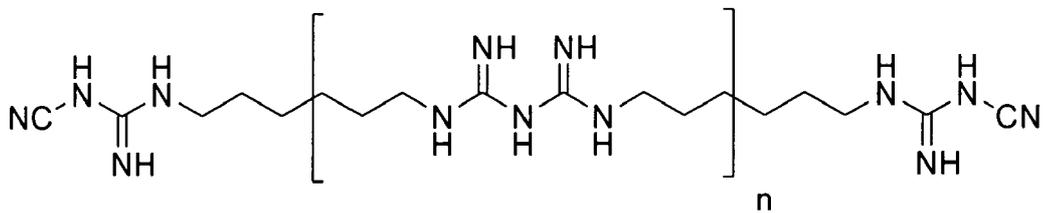
5



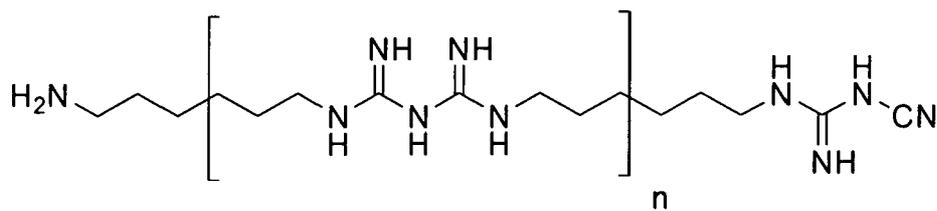
(B-1)



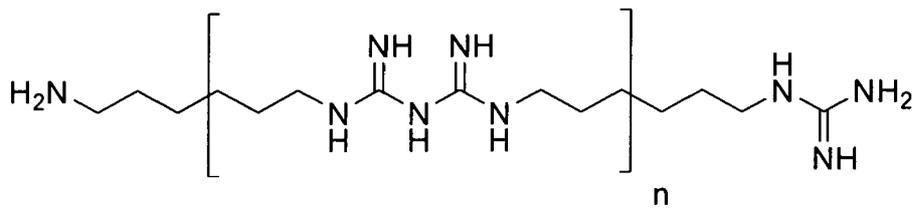
(B-2)



(B-3)



(B-4)



(B-5)

10

ES 2 569 085 T3

peso, el $25\pm 10\%$ en peso, el $25\pm 5\%$ en peso; el $20\pm 15\%$ en peso, el $20\pm 10\%$ en peso, el $20\pm 5\%$ en peso; el $15\pm 10\%$ en peso o el $15\pm 10\%$ en peso.

Preferiblemente, el contenido en peso relativo del componente (A) es mayor que el del componente (B).

- 5 Preferiblemente, la razón en peso relativa del componente (A) con respecto al componente (B) está dentro del intervalo de desde 1000:1 hasta 40:1, más preferiblemente desde 750:1 hasta 100:1, más preferiblemente de 600:1 a 150:1, aún más preferiblemente desde 500:1 hasta 200:1, lo más preferiblemente de 450:1 a 250:1 y en particular desde 400:1 hasta 290:1.

- 10 Intervalos preferidos adicionales de la razón en peso relativa del componente (A) con respecto al componente (B) son: $900\pm 100:1$, $900\pm 75:1$, $900\pm 50:1$, $900\pm 25:1$, $850\pm 100:1$, $850\pm 75:1$, $850\pm 50:1$, $850\pm 25:1$, $800\pm 100:1$, $800\pm 75:1$, $800\pm 50:1$, $800\pm 25:1$, $750\pm 100:1$, $750\pm 75:1$, $750\pm 50:1$, $750\pm 25:1$, $700\pm 100:1$, $700\pm 75:1$, $700\pm 50:1$, $700\pm 25:1$, $650\pm 100:1$, $650\pm 75:1$, $650\pm 50:1$, $650\pm 25:1$, $600\pm 100:1$, $600\pm 75:1$, $600\pm 50:1$, $600\pm 25:1$, $550\pm 100:1$, $550\pm 75:1$, $550\pm 50:1$, $550\pm 25:1$, $500\pm 100:1$, $500\pm 75:1$, $500\pm 50:1$, $500\pm 25:1$, $450\pm 100:1$, $450\pm 75:1$, $450\pm 50:1$, $450\pm 25:1$, $400\pm 100:1$, $400\pm 75:1$, $400\pm 50:1$, $400\pm 25:1$, $350\pm 100:1$, $350\pm 75:1$, $350\pm 50:1$, $350\pm 25:1$, $300\pm 100:1$, $300\pm 75:1$, $300\pm 50:1$, $300\pm 25:1$, $250\pm 100:1$, $250\pm 75:1$, $250\pm 50:1$, $250\pm 25:1$, $200\pm 100:1$, $200\pm 75:1$, $200\pm 50:1$, $200\pm 25:1$, $150\pm 100:1$, $150\pm 75:1$, $150\pm 50:1$, $150\pm 25:1$, $100\pm 100:1$, $100\pm 75:1$, $100\pm 50:1$, $100\pm 25:1$, $50\pm 50:1$ o $50\pm 25:1$.

En una realización preferida, la razón en peso relativa del componente (A) con respecto al componente (B) está dentro del intervalo de desde $300\pm 150:1$, más preferiblemente desde $300\pm 125:1$, más preferiblemente $300\pm 75:1$, aún más preferiblemente $300\pm 50:1$, lo más preferiblemente $300\pm 25:1$ y en particular $300\pm 10:1$.

- 20 En otra realización preferida, la razón en peso relativa del componente (A) con respecto al componente (B) está dentro del intervalo de desde $350\pm 325:1$, desde $350\pm 300:1$, desde $350\pm 275:1$, desde $350\pm 250:1$, desde $350\pm 225:1$, desde $350\pm 200:1$ o desde $350\pm 175:1$, más preferiblemente desde $350\pm 150:1$, más preferiblemente $350\pm 125:1$, aún más preferiblemente $350\pm 100:1$, lo más preferiblemente $350\pm 75:1$ y en particular $350\pm 50:1$.

- 25 En aún otra realización preferida, la razón en peso relativa del componente (A) con respecto al componente (B) está dentro del intervalo de desde $390\pm 150:1$, más preferiblemente desde $390\pm 125:1$, más preferiblemente $390\pm 75:1$, aún más preferiblemente $390\pm 50:1$, lo más preferiblemente $390\pm 25:1$ y en particular $390\pm 10:1$.

Preferiblemente, la razón molar relativa del componente (A) con respecto al componente (B) está dentro del intervalo de desde 1:40 hasta 40:1, más preferiblemente desde 1:30 hasta 30:1, más preferiblemente desde 1:20 hasta 20:1, todavía más preferiblemente desde 15:1 hasta 1:15, aún más preferiblemente desde 10:1 hasta 1:10, lo más preferiblemente desde 6:1 hasta 1:6 y en particular desde 3:1 hasta 1:3.

- 30 El efecto como desinfectante de la composición usada según la invención aumenta generalmente con la concentración de los componentes (A) y (B). Sin embargo, cuanto mayor es su concentración, mayor es el riesgo de efectos no deseados tales como citotoxicidad. Por tanto, la concentración y la razón en peso relativa de los componentes (A) y (B) se elige ventajosamente de modo que a la actividad como desinfectante deseada optimizada se minimicen los efectos no deseados.

- 35 En una realización preferida, la invención se refiere al uso de una composición de desinfectante que comprende una combinación de componentes

(A) ácido cítrico o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, y

(B) polihexametilenbiguanida (PHMB) o una sal fisiológicamente aceptable de la misma.

- 40 En una realización preferida, la invención se refiere al uso de una composición de desinfectante que comprende una combinación de componentes

(A) ácido cítrico o citrato de trisodio, preferiblemente ácido cítrico mezclado con una disolución cáustica de metal alcalino a un pH fisiológicamente aceptable de 2 - 8, preferiblemente 3 - 7, más preferiblemente entre 4 y 5, preferiblemente en una cantidad del 1% en peso al 8% en peso, más preferiblemente en una cantidad del 2% en peso al 6% en peso, y

- 45 (B) polihexametilenbiguanida (PHMB) o una sal fisiológicamente aceptable de la misma, preferiblemente un compuesto según la fórmula general (I) o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, preferiblemente en una cantidad del 0,001% en peso al 0,05% en peso, más preferiblemente en una cantidad del 0,002% en peso al 0,04% en peso.

5 En otra realización preferida, la invención se refiere al uso de una composición de desinfectante que muestra una reducción logarítmica de *Staphylococcus aureus* de al menos 4,0, más preferiblemente al menos 4,2, todavía más preferiblemente al menos 4,4, aún más preferiblemente al menos 4,6, lo más preferiblemente al menos 4,8 y en particular al menos 5,0, en cada caso tras un tiempo de contacto de 5 minutos con la dilución de uso del 100% en presencia de proteína y sangre según la norma DIN EN 13727.

Según la invención, los componentes (A) y (B) están presentes en una cantidad que muestra un efecto antimicrobiano sinérgico, preferiblemente con respecto a la inhibición del crecimiento de bacterias y/u hongos.

10 Preferiblemente, debido a dicho efecto sinérgico de los componentes (A) y (B), la composición de desinfectante usada en la invención muestra una reducción logarítmica de bacterias como *Staphylococcus aureus* de al menos 4,0 tras un tiempo de contacto de 5 minutos según la norma DIN EN 13727 con carga orgánica y una inhibición del crecimiento de levaduras y/u hongos como *Candida albicans*.

15 La norma DIN EN 13727 se refiere a una prueba de suspensión cuantitativa para la evaluación de la actividad bactericida de desinfectantes químicos para instrumentos usados en el área médica. Preferiblemente, la reducción logarítmica se determina según la norma DIN EN 13727 en la versión alemana de 2003 (norma EN 13727:2003), más preferiblemente según la sección experimental. La cepa de *Staphylococcus aureus* está depositada preferiblemente con el número 799 en la DSM.

Productos comparables en el mercado mostraron menos de 1 reducción logarítmica en la misma prueba. Otros productos comparables mostraron tasas de reducción bacteriana comparables pero mayores efectos citotóxicos.

20 La sinergia describe en general una situación en la que diferentes entidades ventajosamente actúan conjuntamente para un resultado final. Esto significa que la totalidad es mayor que la suma de las partes individuales (efecto superaditivo). Para el fin de la memoria descriptiva, un efecto sinérgico debe englobar cualquier efecto superaditivo. Un experto en la técnica conoce métodos adecuados para determinar tal efecto, por ejemplo por medio de análisis de isoblogramas.

25 En aún otra realización preferida, la invención se refiere a una composición de desinfectante que inhibe el crecimiento de bacterias y/u hongos, preferiblemente de *S. aureus* y/o *C. albicans*. La inhibición del crecimiento se determina preferiblemente en una prueba de difusión en agar, más preferiblemente según las condiciones del ejemplo 4. Preferiblemente, el efecto antifúngico se determina según las normas DIN EN 14561 o DIN EN 14562.

30 Según la presente invención, el término "microbiano" se refiere a microorganismos tales como organismos bacterianos y fúngicos. Por consiguiente, el término "antimicrobiano" se refiere a cualquier agente, compuesto o cualquier material que pueda erradicar cualquiera de estos microorganismos o al menos inhibir el crecimiento de cualquiera de estos microorganismos. Preferiblemente, el término "antimicrobiano" se refiere a una composición que destruye (microbicida) o inhibe el crecimiento (microbiostático) de microorganismos tales como bacterias, hongos y/o protozoos y puede destruir también opcionalmente virus.

35 La composición de desinfectante usada en la invención es una disolución que tiene tanto un valor de pH fisiológicamente aceptable así como un valor de pH que es eficaz para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas y tiene un efecto citotóxico bajo aceptable.

40 Sin embargo, en una realización preferida, la composición de desinfectante usada en la invención es una disolución que contiene preferiblemente un agente de acidificación adicional, particularmente si se usa citrato de trisodio, o un agente cáustico si se usa ácido cítrico como precursor, preferiblemente un ácido orgánico o inorgánico, seleccionado más preferiblemente del grupo que consiste en ácido bórico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y ácido bromhídrico, respectivamente disoluciones alcalinas de sales de metal alcalino o alcalinotérreo. El agente de acidificación más preferido es ácido clorhídrico, la disolución alcalina más preferida es NaOH_{ac} en una cantidad que logra el pH preferido de 5.

45 Según la invención, el término "contaminación" se refiere a contaminaciones microbianas en disolución así como en depósitos tales como en biopelículas. Tales contaminaciones pueden inducir, por ejemplo, infecciones microbianas en seres humanos y/o animales.

En una realización preferida, la composición de desinfectante usada en la invención es una disolución que tiene un valor de pH < 7, más preferiblemente ≤ 6,5, todavía más preferiblemente ≤ 6,0, particularmente ≤ 5,0.

50 En otra realización preferida, la composición de desinfectante usada en la invención es una disolución que tiene un valor de pH en el intervalo de < 8 a ≥ 3,5, más preferiblemente ≤ 7,5 a ≥ 5,0, todavía más preferiblemente ≤ 7,5 a ≥ 7,0.

En aún otra realización preferida, la composición de desinfectante usada en la invención es una disolución que tiene un valor de pH que está dentro del intervalo de $5,0 \pm 2,0$, más preferiblemente $5,0 \pm 1,0$, todavía más preferiblemente $5,0 \pm 0,5$.

5 En una realización preferida, la composición de desinfectante comprende iones de metal alcalino, preferiblemente iones de sodio, preferiblemente iones de sodio de una sal fisiológicamente aceptable del ácido cítrico como componente (A). Preferiblemente, la composición de desinfectante usada en la invención es una disolución que tiene una concentración de iones de metal alcalino, preferiblemente iones de sodio, dentro del intervalo de desde 20 hasta 800 mM, más preferiblemente desde 40 hasta 500 mM, todavía más preferiblemente desde 50 hasta 400 mM y en particular desde 100 hasta 250 mM. En otra realización preferida, la composición de desinfectante de la invención es una disolución y no contiene ningún otro ion de metal alcalino distinto de iones de sodio. Sin embargo, en otra realización preferida, la composición de desinfectante es una disolución y no contiene ningún ion de metal alcalino en absoluto.

15 En otra realización de la presente invención la composición de desinfectante comprende también iones de metal alcalinotérreo, preferiblemente iones de calcio, preferiblemente iones de calcio de una sal fisiológicamente aceptable del ácido cítrico como componente (A), más preferiblemente iones de calcio de citrato de calcio. En otra realización preferida, la composición de desinfectante es una disolución y no contiene ningún otro ion de metal alcalinotérreo distinto de iones de calcio. Sin embargo, en otra realización preferida, la composición de desinfectante es una disolución y no contiene ningún ion de metal alcalinotérreo en absoluto.

20 Además de sus propiedades antimicrobianas, la composición de desinfectante usada en la invención también muestra preferiblemente propiedades anticoagulantes.

La composición de desinfectante en disolución tiene propiedades antimicrobianas, preferiblemente antibacterianas y es preferiblemente eficaz contra un amplio espectro de microorganismos, preferiblemente bacterias, incluyendo pero sin limitarse a *Red. S. aureus*, *Red. E. hirae* y *Red. P. aeruginosa*. Preferiblemente, ambos componentes A y B presentan una actividad antibacteriana de este tipo.

25 En una realización preferida, la composición de desinfectante en disolución puede comprender agentes adicionales que tienen propiedades antimicrobianas y/o anticoagulantes, tales como heparina, azul de metileno y sustancias usadas habitualmente para fines de conservación como parabenos (por ejemplo metilparabeno, etilparapeno, propilparabeno, etc.).

30 En otra realización preferida, la composición de desinfectante es una disolución y no comprende ningún agente adicional que tenga propiedades antimicrobianas y/o anticoagulantes.

35 La osmolalidad debe estar dentro del intervalo de la osmolalidad de la sangre humana de entre 800 y 200 mOsmol/kg, preferiblemente a de 270 a 330 mOsmol/kg, más preferiblemente a de 280 a 320 mOsmol/kg, aún más preferiblemente a de 290 a 310 mOsmol/kg. Si los componentes (A) y (B) no proporcionan *per se* una osmolaridad suficiente, el valor requerido puede ajustarse por medio de aditivos adecuados conocidos por el experto en la técnica, por ejemplo NaCl.

En el caso de que la composición de desinfectante sea una disolución, el volumen total de la disolución no está particularmente limitado. Los volúmenes típicos oscilan entre 1 ó 2 ml y varios litros tal como 1 ó 2 litros. Un volumen total preferido es de $1-10 \text{ ml} \pm 5\%$, lo más preferido es $1-3 \text{ ml} \pm 5\%$.

40 Preferiblemente, la composición de desinfectante se proporciona en una forma estéril y puede envasarse de cualquier modo. En el caso de que la composición de desinfectante de la invención sea una disolución, la composición se envasa preferiblemente en forma de ampollas. En este caso, dicha disolución tiene un volumen que permite que se aplique inmediatamente, es decir está lista para usar. El experto en la técnica conoce técnicas de esterilización y envasado. En otra forma, la disolución se diluye preferiblemente con una cantidad apropiada de al menos un portador, preferiblemente agua.

45 La composición de desinfectante usada en la invención se usa para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas, preferiblemente bacterianas, en catéteres. En este sentido, el término "contaminación" engloba cualquier material no deseado de origen biológico.

50 Por tanto, la invención se refiere al uso de la composición de desinfectante para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas, preferiblemente bacterianas y/o fúngicas, en catéteres.

La composición de desinfectante es una disolución de sellado de catéteres, es decir está adaptada para ese fin.

Por consiguiente, la composición de desinfectante en disolución se personaliza para usarse como disolución de sellado de catéteres en catéteres para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas, preferiblemente bacterianas y/o fúngicas, en catéteres.

5 La disolución de sellado de catéteres puede proporcionarse en forma de un concentrado o como un producto listo para usar. Cuando la disolución de sellado de catéteres se proporciona como un concentrado, tiene que diluirse antes de su uso mediante la adición de un disolvente adecuado, preferiblemente agua para fines de inyección o una disolución acuosa.

En una realización particularmente preferida, la disolución concentrada de sellado de catéteres contiene los principios activos, es decir los componentes (A) y (B), en las siguientes concentraciones:

10	Componente (A)	F x 2,856±Y g/1000 ml
	Componente (B) (añadido en forma de una predisolución, al 20% p/p)	F x 0,05±Y g/1000 ml,

en las que

- el valor de pH de la disolución se ajusta a 5,0±0,3 mediante la adición de una base adecuada, preferiblemente NaOH acuoso;

15 - F es un factor, preferiblemente dentro del intervalo de desde 1 hasta 20, más preferiblemente de 2 a 18, todavía más preferiblemente de 5 a 15, lo más preferiblemente de 8 a 12 y en particular de aproximadamente 10; e

- Y es un margen para el valor en [g/1000 ml], preferiblemente del 50%, el 45%, el 40%, el 35%, el 30%, el 25%, el 20%, el 15%, el 10% o el 5%.

20 El concentrado puede diluirse antes de su uso mediante la adición de un disolvente o una mezcla de disolventes adecuados, preferiblemente agua para fines de inyección, produciendo de ese modo una disolución de sellado de catéteres útil que puede aplicarse. Preferiblemente, el concentrado se diluye en una razón de desde 1:2 hasta 1:10, más preferiblemente de 1:3 a 1:8, lo más preferiblemente de 1:3 a 1:5 y en particular de aproximadamente 1:4.

Sin embargo, si es necesario, el concentrado puede usarse como disolución de sellado de catéteres sin ninguna dilución previa (lista para usar).

25 Por tanto, un tercer aspecto de la invención se refiere al uso de una disolución de sellado de catéteres que comprende la composición de desinfectante para la prevención y/o reducción y/o eliminación y/o erradicación de contaminaciones microbianas, preferiblemente bacterianas y/o fúngicas, en catéteres.

30 Un aspecto adicional de la invención se refiere a un método de desinfección y/o limpieza de catéteres que comprende la etapa de poner en contacto un catéter con una disolución de sellado de catéteres que comprende la composición de desinfectante.

Preferiblemente, el método de desinfección y/o limpieza de catéteres comprende las etapas de

a) poner en contacto un catéter con una disolución de sellado de catéteres que comprende la composición de desinfectante;

35 b) mantener la disolución de sellado de catéteres dentro de al menos una luz del catéter durante un periodo de tiempo, preferiblemente durante al menos 1 h; y

c) retirar la disolución de sellado de catéteres de la luz del catéter.

40 La disolución de sellado de catéteres puede usarse en cualquier clase de catéteres conocidos en el estado de la técnica incluyendo, pero sin limitarse a, catéteres para uso a corto plazo y a largo plazo tales como catéteres permanentes, catéteres para terapia intravenosa, catéteres venosos centrales, catéteres que se insertan de manera periférica, catéteres urinarios, catéteres de hemodiálisis y catéteres peritoneales. Estos catéteres pueden comprender una o más luces, es decir pueden ser por ejemplo catéteres de una luz y de luz doble.

El siguiente ejemplo ilustra adicionalmente la invención pero no debe interpretarse que limita su alcance.

Ejemplo 1 - Fabricación

ES 2 569 085 T3

Composición de desinfectante en una disolución de lote (1000 ml) (disolución de materia prima) según la tabla 1:

Tabla 1

N.º	Componentes	Cantidad
1	Ácido cítrico •1 H ₂ O (componente (A))	28,56 g
2	Agua	400 g
3	Disolución de polihexanida (al 20%, Cosmocil™ PG) (componente (B))	0,5 g
4	NaOH _{ac.} al 40% (agente alcalino)	aprox. 65 g (hasta pH 5,0 ± 0,3)
5	Agua	añadir hasta 1000 g

En la tabla 2 se describe otro método de fabricación:

Tabla 2

N.º	Componentes	Cantidad
1	citrato de trisodio •2 H ₂ O (componente (A))	39,0 g
2	Agua	800 g
3	Disolución de polihexanida (al 20%, Cosmocil™ PG) (componente (B))	0,5 g
4	Ácido clorhídrico (agente de acidificación)	aprox. 145 g (pH 5,0 ± 0,3)
5	Agua	añadir hasta 1000 ml

5 Preparación de la disolución de materia prima según la tabla 2:

Se llena un tanque de mezclado con una cantidad de agua (800 g) suficiente para inyecciones (n.º 2 en la tabla 1). Se añaden 39,0 g de citrato de trisodio •2 H₂O como componente (A)), 0,5 g de una disolución de polihexanida (al 20%, Cosmocil™ PG) y aprox. 145 g de ácido clorhídrico al agua (n.º 1, 3 y 4 en la tabla 1). Se agita la mezcla hasta que todos los componentes se disuelven por completo. Se llena el tanque hasta el volumen final de 1000 ml con agua para inyecciones y se agita la mezcla de nuevo. Entonces se filtra la disolución a través de un filtro de polietileno de 0,45 µm y se llenan ampollas de 2 ml. Todas las líneas, filtros y máquinas de llenado limpiados previamente se lavan con la disolución antes de llenar las ampollas.

Controles en proceso

Se mide el valor de pH de la disolución a granel. Se realiza una prueba de integridad de filtro antes y después del llenado. Se retiran la primera y la última unidades llenas de cada lote (ampollas de 2 ml) para pruebas de carga biológica (véase a continuación). Se comprueba el volumen de llenado de cada ampolla mediante el control del peso de las ampollas llenas a intervalos definidos, en el que se aplican los siguientes límites: volumen de llenado de 2 ml ± 5%. A intervalos de tiempo especificados, se retiran algunas unidades y se someten a prueba para detectar posibles fugas y materia particulada visible.

20 Esterilización

Se esterilizan todas las unidades llenas (ampollas de 2 ml) dentro de un procedimiento de esterilización con vapor validado.

Especificación del producto

25 Composición de desinfectante en disolución (2 ml ± 5%) que contiene citrato al 4% en peso y PHMB al 0,01% en peso (tabla 3):

Tabla 3

	Componentes	Cantidad
	Ácido cítrico (componente (A))	228,56 mg/ml
	PHMB (componente (B))	0,1 g/kg

La cantidad de PHMB se mide mediante la absorción UV al valor máximo de la disolución de lote de materia prima (medida en citrato al 4% en peso diluido con agua (1:10)).

El valor de pH de la disolución está en el intervalo de 4,8 a 5,2 (medido según la Farm. Eur. 2.2.2).

La disolución es transparente (medido según la Farm. Eur. 2.2.1 u 11.03.012), esencialmente libre de partículas visibles (medido según la Farm. Eur. 2.9.20).

Ejemplo 2 - Pruebas de suspensión cuantitativas (según la norma DIN EN 13727)

5 Se realizó según la norma DIN EN 13727 una prueba de suspensión cuantitativa con el fin de evaluar la actividad antimicrobiana de la composición de desinfectante de la invención así como desinfectantes comparativos que contenían sólo uno de los componentes (A) y (B) para instrumentos y productos usados en el área médica y de atención sanitaria tales como catéteres.

10 Se añade una suspensión de microorganismos (en este caso: *S. aureus* (*Staphylococcus aureus*) como cepa de prueba) que contiene albúmina al 0,3% + eritrocitos de oveja al 0,3% a cada una de tres disoluciones (S1, S2 y S3) o disoluciones diluidas de S1-S3, es decir las disoluciones S1-S3 con una concentración de prueba del 50% y el 25%, respectivamente, durante un determinado periodo de contacto.

S1 (disolución 1): composición de desinfectante según la presente invención que comprende citrato de trisodio (al 4% en peso) como componente (A) y PHMB (al 0,04% en peso) como componente (B) (100%)

S2 (disolución 2): desinfectante que comprende PHMB (al 0,04% en peso) (componente (B) sólo) (100%)

15 S3 (disolución 3): desinfectante que comprende citrato de trisodio (al 4% en peso) (como componente (A) sólo) (100%)

20 Se toman muestras de cada disolución S1-S3 (diluida) (ahora mezclada con la cepa de prueba) a tiempos de contacto específicos (5, 15 y 30 min) y se determina la actividad bactericida de cada muestra diluyendo en serie las muestras y sembrando en placa las muestras para evaluar la reducción logarítmica de las bacterias en cada muestra.

La tabla 4 muestra un resumen de las reducciones logarítmicas de las pruebas de suspensión cuantitativas para las disoluciones diluidas de S1-S3 según la norma DIN EN 13727 (objetivo: 5 reducciones logarítmicas).

Tabla 4

Tiempo de contacto [min]	S1 (50%)*	S1 (25%)*	S2 (50%)*	S2 (25%)*	S3 (50%)*	S3 (25%)*
5	>5,49	5,07	2,72	2,47	<1,00	<1,00
15	>5,49	>5,49	>5,49	>5,49	<1,00	<1,00
30	>5,49	>5,49	>5,49	>5,49	<1,00	<1,00
*50% = concentración de prueba del 50%						
*25% = concentración de prueba del 25%						

Ejemplo 3 - Prueba de citotoxicidad (según la norma EN ISO 10993-5)

25 Se realizó según la norma EN ISO 10993-5 una prueba de evaluación de la citotoxicidad con el fin de evaluar la citotoxicidad de la composición de desinfectante de la invención así como un desinfectante comparativo que contenía sólo el componente (A) así como una disolución de Taurolock™ disponible comercialmente para instrumentos y productos usados en el área médica y de atención sanitaria tales como catéteres.

Tabla 5

25% de S1 diluida con ácido cítrico al 4% [% de concentración de prueba]	50,00%	16,67%	5,56%	1,85%	0,62%	0,21%
Inhibición de la proliferación [%]	100	100	69	24	6	2
S3 [% de concentración de prueba]	50,00%	16,67%	5,56%	1,85%	0,62%	0,21%
Inhibición de la proliferación [%]	100	100	55	13	4	0
Taurolock™ [% de concentración de prueba]	21,00%	7,00%	2,33%	0,78%	0,26%	0,09%
Inhibición de la proliferación [%]	100	100	100	100	100	63

30 Los datos experimentales anteriores demuestran que las composiciones según la invención

- muestran un efecto antimicrobiano mucho más fuerte que las composiciones comparativas que contienen sólo ácido cítrico o sales fisiológicamente aceptables del mismo, tales como los productos comerciales Duralock® y

Citralock®; y

- muestran una citotoxicidad sustancialmente menor que las composiciones comparativas que contienen combinaciones de ácido cítrico con otros desinfectantes conocidos, tales como taurolidina (por ejemplo, el producto comercial Taurolock®).

- 5 La norma EN ISO 10993-5 describe métodos de prueba para determinar la citotoxicidad de especialidades farmacéuticas. Se incuban células de cultivo o bien a) con extractos de una especialidad farmacéutica o bien b) en contacto con una especialidad farmacéutica. Según la invención, se realiza la prueba preferiblemente según la norma EN ISO 10993-5 en la versión alemana de 1999.

Ejemplo 4 - Actividad bacteriostática y levurostática

- 10 Se realizó una comparación de la inhibición del crecimiento en una prueba de difusión en agar con 1 ml de un cultivo de 24 h diluido 1:50 de los organismos de prueba *Candida albicans* ATCC 10231 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 sembrados en placa sobre la superficie de una placa de agar.

- 15 Se perforaron 4 orificios cada uno con un diámetro de 8 mm en la placa de agar y se llenaron con 0,1 ml de la disolución de prueba. Tras un tiempo de espera de 3 horas, se cultivaron las placas de agar a 36°C durante la noche.

Se midió la zona de inhibición resultante en mm:

Tabla 6

	PHMB al 0,01% (25% de S2 diluida con agua): Zona de inhibición en mm	Citrato de Na al 4% (100% de S3): Zona de inhibición en mm	Intralock con PHMB al 0,01% (25% de S1 diluida con S3): Zona de inhibición en mm
<i>S. aureus</i>	14 / 12	22 / 15	24 / 19,6
<i>C. albicans</i>	16,4 / 17	0 / 0	22 / 20,5

Se calculó cada valor mediante la mediana de 4 valores 2 veces.

- 20 Los datos experimentales anteriores demuestran que el citrato de Na como tal no tiene ningún efecto contra *C. albicans*, mientras que en combinación con PHMB hay un efecto sinérgico sorprendente. Por tanto, parece que el efecto antifúngico de PHMB puede potenciarse mediante la presencia de ácidos cítricos y sus sales, respectivamente.

