

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 597 955**

51 Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 33/38 (2006.01)

A61K 31/045 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.02.2010 PCT/IL2010/000128**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.08.2010 WO10092578**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2010 E 10708653 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016 EP 2395985**

54 Título: **Composiciones antisépticas que comprenden iones de plata y mentol y usos de las mismas**

30 Prioridad:

11.02.2009 US 151539 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.01.2017

73 Titular/es:

**RAMOT AT TEL-AVIV UNIVERSITY LTD. (100.0%)
P.O. Box 39296
61392 Tel Aviv, IL**

72 Inventor/es:

**HADAR, NOA y
FREEMAN, AMIHAY**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 597 955 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones antisépticas que comprenden iones de plata y mentol y usos de las mismas

5 Campo y antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a composiciones antisépticas y usos de las mismas y a composiciones antisépticas que se pueden utilizar de manera eficiente en la desinfección de superficies tales como superficies corporales y, por lo tanto, se pueden utilizar de manera eficiente, por ejemplo, en el tratamiento de afecciones médicas asociadas a infección, tales como heridas agudas o crónicas, quemaduras y heridas quirúrgicas.

Las heridas crónicas se caracterizan por un proceso alterado de la cicatrización, una fase inflamatoria prolongada, re-epitelización insuficiente y remodelación de la matriz extracelular defectuosa. Las células acumuladas dentro de estas heridas son senescentes y su respuesta a factores de crecimiento exógenos es reducida. El resultado final de la alteración del proceso de cicatrización de la herida crónica es la descomposición del tejido, la necrosis local y la infección.

El manejo del lecho de la herida es un proceso de múltiples etapas necesarias para lograr el cierre definitivo de la herida. El desbridamiento, el control de la infección y el cierre de la herida son etapas fundamentales en la cicatrización de las heridas crónicas.

En 2005, las infecciones adquiridas hospitalariamente fueron clasificadas como la cuarta causa principal de muerte en los EE.UU. Se ha referido que aproximadamente 10 millones de pacientes con heridas traumáticas son tratados cada año en los servicios de urgencia de los Estados Unidos. Las heridas crónicas afectan al 1-3 % de la población total, e incluyen fundamentalmente úlceras venosas en las piernas, úlceras del pie diabético y úlceras por presión. Las úlceras venosas causadas por insuficiencia venosa crónica son las más frecuentes (~ 70 %) entre las heridas crónicas que no cicatrizan.

El número de casos de urgencia en los que la infección de una herida crónica conduce a complicaciones potencialmente mortales está aumentando junto con el aumento en el número de heridas crónicas infectadas por microorganismos resistentes a los antibióticos. La presencia de la colonización bacteriana es uno de los factores más importantes en la patogénesis de la mayoría de las heridas crónicas, lo que tiene como resultado recuentos bacterianos altos en el tejido de la herida y en la respuesta inflamatoria del hospedador.

En las heridas crónicas infectadas, la cicatrización de la herida se retrasa o incluso se anula cuando están infectadas con una gran carga bacteriana. La reducción de la carga bacteriana es crucial y debe llevarse a cabo antes del proceso de cicatrización. Con el fin de optimizar el proceso de cicatrización de la herida, a menudo necesario el tratamiento de los factores subyacentes, tales como la malnutrición y la isquemia, junto con la disminución de la carga bacteriana.

La infección de las heridas crónicas retrasa la curación y por lo general provoca un deterioro en el estado del lecho de la herida crónica, lo cual también puede dar como resultado la ruptura completa de la herida. Aparte del efecto perjudicial sobre las heridas, la infección puede tener un efecto sistémico, que en algunos casos puede ser mortal.

La contaminación bacteriana retrasa la cicatrización de la herida a través de varios mecanismos diferentes, por ejemplo, la producción persistente de mediadores de la inflamación que tiene como resultado una respuesta inflamatoria prolongada que contribuye a la lesión del hospedador y retrasa el proceso de cicatrización. Además, las bacterias compiten con las células hospedadoras por los nutrientes y el oxígeno esencial para el proceso de cicatrización de la herida. La infección de la herida también puede conducir a la hipoxia tisular, interrumpir el desarrollo de tejido de granulación, reducir el número de fibroblastos y la producción de colágeno y daños en la re-epitelización. Abordar la cuestión de la limpieza de la herida infectada, por tanto, es un objetivo principal del tratamiento del cuidado de las heridas y juega un papel fundamental en el tratamiento de las heridas.

Una gran parte de las úlceras del pie se deben a la complicación de la diabetes mellitus. Estas lesiones se infectan con frecuencia y a menudo se acompañan de osteomielitis. La mayoría de las infecciones en estas lesiones son de gravedad leve a moderada y pueden ser manejadas con el cuidado apropiado de la herida y tratamiento antibiótico oral. Algunas infecciones, sin embargo, penetran en la fascia, los músculos, las articulaciones y los huesos. En estos casos, los pacientes requieren hospitalización, terapia antibiótica parenteral y procedimientos quirúrgicos. En algunos casos, las infecciones del pie en pacientes con diabetes pueden ser difíciles de tratar y el fracaso terapéutico a menudo conduce a la amputación de una extremidad inferior. Además, las infecciones del pie diabético causadas por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) se asocian con un retraso en la cicatrización y en muchos casos con amputaciones.

Los agentes antisépticos se utilizan comúnmente para prevenir y tratar las infecciones de las heridas. A diferencia de los antibióticos que actúan selectivamente sobre microorganismos específicos, los agentes antisépticos tienen múltiples dianas y un espectro más amplio de actividad. La mayoría de los agentes antisépticos utilizados no han

demostrado que dificultan claramente la curación.

Entre los agentes antisépticos comercializados más comúnmente usados en la práctica clínica están el yodo, clorhexidina, alcohol, acetato, peróxido de hidrógeno, ácido bórico, nitrato de plata, sulfadiazina de plata e hipoclorito de sodio. Su eficacia, sin embargo, parece estar limitada en vista de los brotes recientemente descritos asociados con antisépticos contaminados [Weber et al. 2007, *Antimicrob Agent Chemother* 51:4217-4224].

Los compuestos de plata han sido ampliamente utilizados como antisépticos para heridas para contrarrestar las infecciones bacterianas en heridas crónicas y agudas incluyendo quemaduras [Burrell 2003, *Ostomy Wound Manag* 49:19-24; Ovington 2004, *Ostomy Wound Manag* 50: 1S-15]. La plata se sabe que bloquea el crecimiento de bacterias gram-negativas y gram-positivas. La plata iónica destruye los microorganismos, pero no es citotóxica para el tejido de granulación proliferante. Las formulaciones de plata parecen aumentar la velocidad y el grado de la destrucción microbiana, disminuir la formación de exudado y recientemente se ha descrito que afectan a las biopelículas bacterianas.

Los compuestos de plata más comúnmente utilizados son sulfadiazina de plata (SDP) y nitrato de plata (AgNO_3). Otros agentes tópicos que contienen plata comúnmente empleados son partículas de plata nanocristalina. La sulfadiazina de plata (SSD) se utiliza generalmente como un tratamiento para la prevención de la infección en pacientes con heridas de quemaduras [Klasen 2000, *Burns* 26: 131-138]. Se han desarrollado sistemas de liberación de plata nanocristalina, por ejemplo, Acticoat® [Tredget et al. 1998 *J. Burn Care Rehabil.* 19:531-537] con el fin de prolongar su eficacia. Los pacientes con úlceras por presión crónicas infectadas se sometieron a SSD y en todas las úlceras se observó una disminución efectiva de la carga bacteriana. SSD al 1 % en crema reduce significativamente la úlcera venosa, afectando positivamente a la limpieza de la herida y a la formación de tejido de granulación.

El nitrato de plata se utilizó por primera vez para el tratamiento de heridas crónicas y úlceras [Klasen 2000, *Burns* 26: 131-138]. Se encontró que es eficaz contra una amplia gama de flora bacteriana especialmente contra las bacterias gram-negativas. La plata nanocristalina se incorporó más tarde en apósitos para heridas como una formulación de liberación sostenida para el tratamiento de heridas agudas y crónicas, incluyendo quemaduras [Voight et al. 2001, *Wounds* 13: B11-B21; Sondi and Salopek-Sondi 2004, *J Colloid Interf Sci* 275: 177-182; Parsons et al. 2005, *Wounds*, 17: 222-232].

Las formulaciones que contienen plata para el tratamiento tópico de heridas se basan sobre todo en un apósito para heridas que contiene plata. La administración y la penetración de los iones de plata en el lecho de la herida infectada por tales apósitos a menudo está limitada por las reacciones químicas, por ejemplo, con iones cloruro dando como resultado la precipitación de cloruro de plata inactivo, lo que reduce la cantidad eficaz de iones de plata antimicrobianos que alcanzan las áreas infectadas objetivo. Otros inconvenientes incluyen la coloración afectada por la plata y la irritación local.

Paralelamente al uso frecuente y excesivo de los tratamientos tópicos a base de plata para el manejo de las heridas, se ha referido un aumento del número de notificaciones de resistencia bacteriana a la plata [Silver 2003, *FEMS Microbiology Reviews* 27:341-353; Chopra 2007, *J Antimicrobial Chemotherapy* 59: 587-590].

El mentol es un monoterpeno natural de origen vegetal, que se utiliza frecuentemente en dermatología como parte de formulaciones antipruriginosas, antisépticas, analgésicas y/o refrescantes. Los mecanismos moleculares que subyacen a la contribución mentol a estas actividades - y en particular a su actividad antibacteriana - han sido recientemente descritos [Patel, 2007, *J Am Acad Dermatol* 57: 873-878; Evrand 2001, *Pharma Resear* 18:943-949; Trombetta et al. 2005, *Antimicrob Agent Chemother* 49: 2474-2478; Schelz et al. 2006, *Fiterapia* 77: 279-285; Cristani et al. 2007, *J Agri Food Chem* 55: 6300-6308].

Se espera que las soluciones hipertónicas añadan beneficios al manejo del lecho de la herida gracias a la reducción de carga microbiana, una mayor eliminación del exudado e impacto en la circulación de fluido. Se ha demostrado que las soluciones salinas hipertónicas son una herramienta muy útil en la práctica neuroquirúrgica.

La técnica de relevancia incluye las patentes US-5.643.589 y US-5.562.643.

El mentol se ha descrito en la técnica como un agente antipruriginoso, agente antiséptico, agente analgésico y refrescante, que puede ser usado también en aplicaciones dermatológicas. También se han descrito composiciones que comprenden iones de plata y mentol.

Por ejemplo, El Manual Merck sugiere la combinación de mentol y plata en composiciones dermatológicas en el capítulo "Principios de la terapia tópica dermatológica" (www.merck.com/mmpe/print/sec10/ch110/ch110a.html). La plata se define como un agente antiséptico y el mentol se define como un agente anti-prurítico (agente anti-picores) en el mismo.

Otra técnica relevante adicional incluye la Solicitud de Patente Internacional n.º PCT/IL2007/000015, la patente US-6.551.608, la Solicitud de Patente de los Estados Unidos n.º 11/783.668 (n.º de Publicación 20070255193) y la

Solicitud de Patente de los Estados Unidos n.º 10/535,961 (n.º de Publicación 20060105000).

Composiciones antisépticas que comprenden iones de plata también se han divulgado en la Patente US-5.607.683 y en la Patente US-6.093.414.

El uso de la plata en el tratamiento de quemaduras ha sido revisado en Klasen et al [1999 Burns, 26: 117-130 y 131-138].

El uso de nanopartículas de plata se ha descrito en Morones et al [2005, Nanotechnology, 16: 2346-2353], Egger et al [2009, Applied and Environmental Microbiology, 75: 2973-2976] y Rai et al [2009, Biotechnology Advances, 27: 76-83].

La transmisión continua de solución terapéutica (CST) es una nueva modalidad de manejo de la herida crónica desarrollado por los presentes inventores, así como otros, y consiste en la transmisión continua de dosis frescas de soluciones terapéuticas en el entorno controlado de la herida. La transmisión a través de las heridas crónicas permite el confinamiento aséptico de la herida, la terapia de presión negativa (sin bomba), condiciones de humedad, limpieza continua y el manejo general del lecho de la herida. Dicha terapia de transmisión continua se ha divulgado, por ejemplo, en la Patente US-7.364.565, concedida a algunos de los presentes inventores.

Sumario de la invención

En la búsqueda de una composición antiséptica con un mejor rendimiento, los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que una combinación de iones de plata y mentol presenta un efecto sinérgico.

Además, se ha descubierto que esta actividad se mantiene en la presencia de un agente hiperosmótico.

Por lo tanto, en la presente memoria se divulga que las composiciones antisépticas a base de iones de plata exhiben un efecto sinérgico cuando se combinan con una baja concentración de mentol, en un medio isotónico o hipertónico, en el que los iones de plata están presentes en concentraciones más bajas que las normalmente utilizadas para los propósitos antisépticos. Tales composiciones son capaces de ejercer actividad antimicrobiana contra un amplio espectro de microorganismos patógenos al tiempo que permiten aliviar el dolor, refrescar y cicatrizar las heridas, sin estar asociadas con efectos secundarios adversos tales como la coloración y la irritación, que se observan con frecuencia con las soluciones que contienen iones de plata actualmente disponibles.

Además, se ha demostrado que las composiciones antisépticas que comprenden iones de plata o complejos de los mismos a una concentración que varía de 0,005 % p/v a 0,5 % p/v en combinación con mentol en una concentración que varía de 0,05 % p/v a 0,5 % p/v y un agente hiperosmótico tal como glicerol, son soluciones transparentes desprovistas de precipitados.

En consecuencia, las heridas agudas y crónicas, tales como las úlceras diabéticas, se pueden tratar eficazmente con las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria. Por otra parte, se pueden conseguir mayores tasas de cicatrización de las heridas cuando las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria se aplican sobre y a través de la herida en un flujo continuo de modo que las concentraciones del agente antimicrobiano y el agente hiperosmótico en contacto con la herida se mantienen constantes.

Además, se ha divulgado que las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria pueden actuar como conservantes, previniendo o reduciendo el crecimiento microbiano en condiciones no estériles.

Además, se ha demostrado que tales composiciones antisépticas exhiben una actividad fungicida eficaz, que supera a la de los productos antifúngicos disponibles comercialmente. Además, se ha divulgado que un tratamiento secuencial combinado de una composición antiséptica como se describe en la presente memoria y un producto antiséptico comercial a base de polihexadina es muy eficaz en la inhibición del crecimiento de diversas cepas de hongos, particularmente cuando se utiliza primero la composición antiséptica de plata.

De acuerdo con un aspecto de algunas divulgaciones se proporciona una composición antiséptica que comprende, como principios activos, mentol y una fuente de iones de plata y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que una concentración de los iones de plata en la composición es menor que 6 mM.

El mentol y los iones de plata actúan en sinergia.

En algunas divulgaciones, una concentración del mentol varía de 0,3 mM a 32 mM.

En algunas divulgaciones, la concentración del mentol varía de 0,6 mM a 6,4 mM.

En algunas divulgaciones, una concentración de los iones de plata varía de 0,05 mM a 6 mM.

- En algunas divulgaciones, una concentración de los iones de plata varía de 0,25 mM a 0,6 mM.
- En algunas divulgaciones, una concentración de los iones de plata varía de 0,25 mM a 0,6 mM y una concentración del mentol varía de 0,6 mM a 6,4 mM.
- 5 En algunas realizaciones, una concentración de los iones de plata es 0,29 mM y una concentración del mentol es 6,4 mM.
- 10 En algunas realizaciones, una concentración de los iones de plata es 0,29 mM y una concentración del mentol es 3,2 mM.
- En algunas divulgaciones, una concentración de los iones de plata es 0,29 mM y una concentración del mentol es 0,64 mM.
- 15 En algunas realizaciones, una concentración de los iones de plata es 0,44 mM y una concentración del mentol es 3,2 mM.
- En algunas realizaciones, una concentración de los iones de plata es 0,6 mM y una concentración del mentol es 3,2 mM.
- 20 En algunas realizaciones, una concentración de los iones de plata es 0,6 mM y una concentración del mentol es 0,64 mM.
- En algunas realizaciones, la fuente de iones de plata se selecciona del grupo que consiste en nitrato de plata, sulfadiazina de plata, un complejo de aminoalcohol-ion de plata, un complejo de aminoácido-ion de plata y un complejo polímero-ion de plata.
- 25 En algunas realizaciones, el complejo polímero-ion de plata es el complejo polivinilpirrolidona (PVP)-ion de plata.
- 30 En algunas realizaciones, la composición antiséptica comprende además un agente hiperosmótico.
- En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico se selecciona del grupo que consiste en glicerol, polietilenglicol, un polisacárido, manitol, y una combinación de los mismos.
- 35 En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico es glicerol.
- En algunas realizaciones, una concentración de glicerol varía de 3 % v/v a 15 % v/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.
- 40 En algunas realizaciones, una concentración de glicerol es 10 % v/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.
- En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico es polietilenglicol (PEG).
- 45 En algunas realizaciones, una concentración del PEG varía de 8 % v/v a 16 % v/v basado en el volumen total de la composición antiséptica.
- En algunas realizaciones, la composición antiséptica comprende además un agente solubilizante.
- 50 En algunas realizaciones, el agente solubilizante es TWEEN 20.
- En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable es una solución acuosa.
- En algunas realizaciones, la composición antiséptica se formula como una forma farmacéutica tópica.
- 55 En algunas realizaciones, la forma farmacéutica tópica se selecciona del grupo que consiste en una crema, un aerosol, una gasa, una toallita, una esponja, tela no tejida, tela de algodón, una espuma, una solución, una loción, una pomada, una pasta y un gel.
- 60 De acuerdo con un aspecto de realizaciones de la invención, se proporciona un kit antiséptico que comprende un material de envasado y la composición antiséptica como se reivindica en la presente memoria que se ha de envasar en el material de envasado.
- En algunas realizaciones, el kit antiséptico se identifica impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso en la desinfección de una superficie.
- 65

En algunas realizaciones, la superficie es una superficie corporal.

En algunas realizaciones, el kit antiséptico se identifica impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso en el tratamiento de una herida.

5 En algunas realizaciones, la herida se selecciona del grupo que consiste en una herida aguda, una herida crónica, una quemadura y una herida quirúrgica.

10 En algunas realizaciones, la herida crónica se selecciona del grupo que consiste en una úlcera diabética, una úlcera venosa y una úlcera por presión.

En algunas divulgaciones, al menos uno de la fuente de iones de plata, el mentol y el vehículo farmacéuticamente aceptable se envasa individualmente en el material de envasado.

15 En algunas divulgaciones, cada uno de la fuente de iones de plata, el mentol y el vehículo farmacéuticamente aceptable se envasa individualmente en el material de envasado.

20 En algunas divulgaciones, la fuente de iones de plata, el mentol y el vehículo farmacéuticamente aceptable se envasan juntos en el material de envasado.

De acuerdo con la divulgación, se proporciona un método para desinfectar una superficie, comprendiendo el método aplicar una cantidad eficaz de la composición antiséptica como se describe en la presente memoria sobre la superficie, desinfectando de este modo la superficie.

25 En algunas divulgaciones, la superficie es una superficie corporal, siendo el método para la desinfección de la superficie corporal de un sujeto en necesidad del mismo.

30 En algunas divulgaciones, el método comprende la aplicación tópica de la composición antiséptica sobre la superficie corporal.

En algunas realizaciones, la superficie corporal es un tejido de la piel.

En algunas divulgaciones, el método es para el tratamiento de una infección en dicha superficie corporal.

35 En algunas realizaciones, la infección es causada por un microorganismo patógeno seleccionado del grupo que consiste en bacterias, levaduras y hongos.

40 De acuerdo con una divulgación, se proporciona un método de tratamiento de una herida, tal como se describe en la presente memoria, en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método aplicar una cantidad eficaz de la composición antiséptica como se describe en la presente memoria a la zona de la herida, tratando de este modo la herida.

45 En algunas divulgaciones, el método comprende la aplicación tópica de la composición antiséptica en el área de la herida.

En algunas realizaciones, la aplicación tópica de la composición antiséptica se realiza mediante la transmisión de un flujo de la composición antiséptica sobre y a través de la zona de la herida.

50 En algunas realizaciones, el flujo es inducido por la gravedad a partir de al menos un depósito que comprende la composición antiséptica.

En algunas realizaciones, el flujo es inducido por una bomba en comunicación fluida con al menos un depósito que comprende la composición antiséptica.

55 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un uso de la composición antiséptica reivindicada en la presente memoria en la fabricación de un producto para la desinfección de una superficie.

En algunas realizaciones, el producto es un medicamento para la desinfección de una superficie corporal.

60 En algunas realizaciones, el medicamento es para el tratamiento de una infección en dicha superficie corporal.

En algunas realizaciones, la infección es causada por un microorganismo patógeno seleccionado del grupo que consiste en bacterias, levaduras y hongos.

65

De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un uso de la composición antiséptica reivindicada en la presente memoria en la fabricación de un medicamento para tratar una herida, como se describe en la presente memoria.

5 De acuerdo con un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un proceso de preparación de la composición antiséptica como se reivindica en la presente memoria, comprendiendo el proceso mezclar la fuente de iones de plata, el mentol y el vehículo farmacéuticamente aceptable, obteniendo de este modo la composición antiséptica.

10 En algunas realizaciones, el método comprende además la mezcla de un agente hiperosmótico con la composición.

En algunas realizaciones, el método comprende además la mezcla de un agente solubilizante con la composición.

15 En algunas realizaciones, el agente solubilizante se mezcla con el mentol, antes de mezclar el mentol con la fuente de iones de plata y el vehículo.

En algunas realizaciones, el agente solubilizante es TWEEN 20.

20 De acuerdo con una divulgación, se proporciona un método para reducir una concentración de iones de plata en una composición antiséptica que comprende iones de plata, comprendiendo el método mezclar con una fuente de iones de plata y una cantidad sinérgicamente eficaz de mentol, reduciendo de este modo la concentración de los iones de plata en la composición antiséptica.

En algunas divulgaciones, la concentración de los iones de plata se reduce en al menos 2 veces.

25 En algunas divulgaciones, la concentración de los iones de plata se reduce en al menos 10 veces.

30 De acuerdo con una divulgación, se proporciona un método para aumentar una actividad antiséptica de una composición antiséptica que comprende una fuente de iones de plata en una concentración inferior a 6 mM, comprendiendo el método mezclar con la composición una cantidad sinérgicamente eficaz de mentol.

35 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y/o científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto ordinario en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque en la práctica o en las pruebas se pueden usar los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, se describen a continuación ejemplos de métodos y/o materiales. En caso de conflicto, prevalecerá la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no se pretende que necesariamente sean limitantes.

Breve descripción de los dibujos

40 Algunas realizaciones de la invención se describen en la presente memoria solo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos. Con referencia específica ahora a los dibujos en detalle, hay que señalar que los detalles mostrados son a modo de ejemplo y para fines de discusión ilustrativa de las realizaciones de la invención. A este respecto, la descripción tomada con las imágenes hace evidente para los expertos en la técnica cómo pueden 45 ponerse en práctica realizaciones de la invención.

En los dibujos:

50 La Figura 1 presenta una imagen que ilustra en general el aspecto de un cultivo de hongos después de 24 días de incubación tras la exposición de 30 minutos a una solución ensayada y posterior lavado y que no presenta ningún crecimiento (efecto fungicida, indicado como "F"), crecimiento mínimo (efecto inhibidor, indicado como "IN") o crecimiento total (sin efecto, indicado como "NE").

55 Las Figuras 2-4 presentan imágenes que ilustran el aspecto del cultivo de hongos expuesto después de 3, 8, 11 y 16 días de incubación después de 30 minutos de exposición a cada una de las soluciones ensayadas y posterior lavado. Las soluciones ensayadas incluían: una composición que contiene iones de plata y mentol, como se describe en el Ejemplo 5 anterior (indicado como "S"), PRONTOSAN® (indicado como "P"), exposiciones posteriores alternantes a una composición que contiene iones de plata y mentol (S) y PRONTOSAN® (P), (indicado como "S + P" y "P + S"), MICROCYN® (indicado como "M") y ANACEPT® (indicado como "A") y sus diluciones (1:2; 1:4; 1:8). Las cepas fúngicas ensayadas fueron una cepa clínica de 60 *Trichophyton rubrum* (FIG. 2); *Trichophyton rubrum* NCPF 118 cepa comercial (FIG. 3) y una cepa clínica de *Microsporum canis* (FIG. 4).

Descripción de realizaciones específicas de la invención

65 La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a composiciones antisépticas y usos de las mismas y, más particularmente, pero no exclusivamente, a composiciones antisépticas que se pueden utilizar de

manera eficiente en la desinfección de superficies tales como superficies corporales y, por lo tanto, se pueden utilizar de manera eficiente, por ejemplo, en el tratamiento de afecciones médicas asociadas a infección, tales como heridas agudas y crónicas, quemaduras y heridas quirúrgicas y/o como conservantes.

Las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria comprenden una fuente de iones de plata y mentol, de modo que los iones de plata y el mentol actúan en sinergia, lo que permite el uso de concentraciones relativamente bajas de cada uno. Por tanto, las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria se preparan fácilmente como soluciones (como ejemplo), sin precipitación de los principios activos y están desprovistas de los efectos secundarios adversos asociados con los antisépticos a base de iones de plata actualmente disponibles a la vez que exhiben una amplia y elevada eficacia terapéutica.

Antes de explicar al menos una realización de la invención en detalle, se entiende que la invención no está necesariamente limitada en su aplicación a los detalles ejemplificados por los Ejemplos. La invención es capaz de otras realizaciones o de ser ejecutada o llevada a cabo de varias maneras.

Los presentes inventores han reconocido que una de las soluciones potenciales para el desarrollo de la resistencia microbiana a la plata es el uso de una combinación de una fuente de iones de plata y otro agente antibacteriano que, junto con los iones de plata, exhibe un efecto sinérgico antibacteriano (o antimicrobiano). Tal combinación permite la reducción sustancial del contenido de plata, y por tanto, también elimina los efectos secundarios tales como la coloración de la herida y la irritación causada por los iones de plata. Dicha combinación, sin embargo, tiene que basarse en la compatibilidad de todos los ingredientes utilizados con los iones de plata, con el fin de evitar la posible precipitación de la plata. Siempre que las combinaciones sugeridas sean compatibles, existen pruebas fácilmente disponibles para la demostración de la viabilidad del efecto antimicrobiano sinérgico (véase, por ejemplo, Mackay et al. 2000 Int J Antimicrob Agents 15:125-129 y Peter et al. 2006 J Antimicrob Chemother 57:573-576).

Las diversas realizaciones y aspectos de la invención se presentan en las reivindicaciones de la presente memoria.

Aunque se conocen muchos agentes antibacterianos, antimicrobianos y/o antisépticos, es difícil predecir cuál de estos agentes, cuando se combinan entre sí, actuarían en sinergia.

El término "antiséptico" como se usa en la presente memoria describe la capacidad de un agente o una composición para efectuar la reducción de la carga microbiana y/o el efecto de prevención del desarrollo de la carga microbiana, mediante la aplicación tópica del agente o composición. Una composición o agente antiséptico es, por lo tanto, capaz de prevenir o detener el crecimiento o la acción de los microorganismos (tales como, por ejemplo, bacterias, levaduras y hongos), ya sea mediante la inhibición de su actividad y/o el crecimiento o destruyendo (matando) los microorganismos.

El término "antiséptico" se utiliza comúnmente en la técnica para describir preparaciones para la aplicación tópica en el tejido vivo infectado o a cualquier otra superficie infectada, o una superficie en riesgo de ser infectada, como se detalla en la presente memoria a continuación.

Las composiciones y agentes antisépticos también se denominan en la presente memoria como composiciones o agentes antimicrobianos. El término "antimicrobiano", como se usa en la presente memoria, describe una composición o agente capaz de prevenir o detener el crecimiento y/o acción de los microorganismos, ya sea mediante la inhibición de la actividad de los microorganismos, al inhibir el crecimiento de los microorganismos o destruyendo los microorganismos.

Los términos "sinergia", "sinergismo" y cualquier desviación gramatical de los mismos, tal como se usan en la presente memoria, describen una acción cooperativa encontrada en combinaciones de dos o más compuestos biológicamente activos en los que el efecto combinado exhibido por los dos compuestos cuando se usan juntos excede la suma del efecto de cada uno de los compuestos cuando se usan solos. Por lo tanto, a menudo se determina la "sinergia" cuando un valor que representa un efecto de una combinación de dos agentes activos es mayor que la suma de los mismos valores obtenidos para cada uno de estos agentes cuando actúan solos.

Una sinergia entre dos agentes antisépticos se puede determinar por métodos bien conocidos en la técnica.

Como se presenta en la sección Ejemplos que sigue, sorprendentemente se ha descubierto que los iones de plata y el mentol actúan en sinergia. La sinergia se determinó midiendo la actividad antiséptica del mentol solo y de los iones de plata solo, frente a diversas bacterias, en comparación con su actividad cuando se administran juntos. Se considera que los dos agentes actúan en sinergia si la actividad antiséptica observada de los agentes, cuando se administran juntos, supera a la actividad antiséptica acumulada esperada mediante la combinación de la actividad observada de los agentes cuando se administran solos.

Además, la sinergia se demuestra y, por tanto, se determina, cuando los parámetros farmacocinéticos de la actividad antiséptica, exhibidos cuando los agentes se administran juntos, son superiores a los mismos parámetros farmacocinéticos de la actividad antiséptica de los agentes cuando cada agente se administra solo. Un ejemplo de

parámetro farmacocinético es la duración del tiempo necesario para alcanzar un cierto nivel de un efecto antiséptico. Por lo tanto, se considera que los dos agentes actúan en sinergia si la duración del tiempo necesario para alcanzar este nivel de efecto antiséptico se reduce cuando los agentes se administran juntos, en comparación con esta duración de tiempo cuando los agentes se administran cada uno solo.

Hay que señalar a este respecto que en los parámetros farmacocinéticos, por lo general, la suma de valores no tiene importancia y, por lo tanto, cualquier mejora en un parámetro farmacocinético tras la coadministración de dos agentes, en relación con la administración de cada compuesto solo, se considera que refleja sinergia.

Por lo tanto, se ha visto, por ejemplo, que se observaba actividad antiséptica sinérgica de las soluciones hiperosmolares que contienen la fuente de iones de plata AgNO_3 y mentol en concentraciones de 0,005 % p/v + 0,1 % p/v, 0,005 % p/v + 0,05 % p/v, 0,0075 % p/v + 0,05 % p/v, 0,01 % p/v + 0,05 % p/v y 0,01 % p/v + 0,01 % p/v, respectivamente, cuando se ensayaban contra *E. coli* cepa ATCC47076 (véase la Tabla 1 en la presente memoria a continuación). Estos valores corresponden a una concentración molar de iones de plata y mentol de 0,29 mM + 6,4 mM, 0,29 mM + 3,2 mM, 0,44 mM + 3,2 mM, 0,6 mM + 3,2 mM y 0,6 mM + 0,64 mM, respectivamente. En concreto, en estas concentraciones, la actividad antiséptica acumulativa del mentol y de los iones de plata cuando cada uno se administra solo era menor que la actividad antiséptica observada cuando los agentes se administraron juntos.

También se ha demostrado que los iones de plata y mentol actúan en sinergia contra varios tipos de bacterias, incluyendo *Klebsiella pneumoniae*, una cepa clínica resistente a meticilina de *Staphylococcus aureus* (MRSA), una cepa clínica de *Staphylococcus epidermis*, una cepa clínica de *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de amplio espectro, una cepa clínica de *Acinetobacter baumannii* multi-resistente a fármacos y una cepa clínica de *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente a fármacos (Véase la Tabla 2 a continuación en la presente memoria). En estos estudios, el efecto sinérgico de los iones de plata y el mentol se demostró por la duración de tiempo más corta medida hasta que se observó un cierto nivel de actividad antiséptica en comparación con la longitud de tiempo hasta que se observó el mismo nivel de actividad antiséptica cuando se administraba cada agente solo.

Se ha demostrado, además, que las soluciones que contienen la fuente de iones de plata y mentol son soluciones claras, desprovistas de precipitados.

Además, se ha demostrado que se obtiene la concentración mínima inhibitoria de dicha composición a una dilución 1:4 de la composición, y que se obtiene la concentración bactericida mínima de una composición tal en dilución 1:2 de la composición (véase la Tabla 3 en la sección de Ejemplos siguiente).

En consecuencia, una composición antiséptica como se describe en la presente memoria se puede usar beneficiosamente en cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, siempre que sea diluida por al menos 1:2, y opcionalmente por 1:2,1, 1:2,2, 1:2,3, 1:2,4, 1:2,5, 1:2,6, 1:2,7, 1:2,8, 1:2,9, 1:3, 1:3,1, 1:3,2, 1:3,3, 1:3,5, 1:3,5, 1:3,6, 1:3,7, 1:3,8, 1:3,9, 1:4, e incluso en diluciones más altas (por ejemplo, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9 y 1:10).

Se ha demostrado, además, que tras la dilución 1:10, una composición de ejemplo que comprende iones de plata y mentol impedía el crecimiento de diversas cepas de bacterias y hongos en una muestra no estéril (véase, el Ejemplo 5 en la sección de Ejemplos siguiente).

El efecto terapéutico beneficioso de las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria se demostró adicionalmente en comparación con los productos disponibles en el mercado PRONTOSAN®, MICROCYN® y ANASEPT® (véase, Ejemplo 6 en la sección de Ejemplos siguiente y las Figuras 2-4). Las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria, demostraron tener actividad fungicida frente a cepas clínicas de hongos tales como *Trichophyton rubrum* y *Microsporum canis*, que superaron a algunos de los productos disponibles en el mercado y se vio que combinaba eficazmente con PRONTOSAN®.

El efecto sinérgico observado para la combinación los iones de plata y mentol por lo tanto permite proporcionar composiciones antisépticas con concentración reducida de iones de plata, junto con la ventaja de otras propiedades beneficiosas del mentol, tales como, por ejemplo, su efecto antipruriginoso, su efecto refrescante, etc .

Estos hallazgos demuestran que una composición que comprende iones de plata y mentol como la reivindicada, puede servir como potente composición antiséptica para la desinfección de superficies tales como superficies corporales y, por lo tanto, para el tratamiento o prevención de afecciones asociadas a infección, tales como heridas, como se detalla a continuación en la presente memoria.

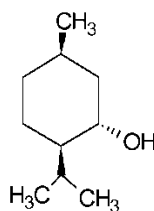
Estos resultados demuestran además que una composición que comprende los iones de plata y mentol como la reivindicada puede servir como composición antiséptica potente, para la desinfección de superficies de, por ejemplo, dispositivos médicos y contenedores de almacenamiento, y para prevenir el desarrollo de la carga microbiana en tales superficies.

Por lo tanto, de acuerdo con la divulgación, se proporciona una composición antiséptica que comprende, como principios activos, mentol y una fuente de iones de plata, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que la concentración de los iones de plata en la composición es menor que 6 mM.

- 5 De acuerdo con algunas realizaciones, el mentol y los iones de plata actúan en sinergia, como se define anteriormente en la presente memoria.

El mentol, (5-metil-2-propan-2-il-ciclohexan-1-ol; n.º CAS 89-78-1, PM = 156 gramos/mol) es un monoterpeno natural de origen vegetal, que se utiliza frecuentemente en dermatología como parte de formulaciones antipruriginosas, antisépticas, analgésicas y refrescantes. El mentol es una sustancia cerosa, cristalina, transparente o de color blanco, que es sólida a temperatura ambiente y se funde ligeramente por encima de esta. El mentol tiene tres centros asimétricos y existe como ocho estereoisómeros: (+)-mentol, (+)-isomentol, (+)-neomentol, (+)-neoisomentol, (+)-mentol, (+)-isomentol, (+)-neomentol, (+)-neoisomentol, todas ellas abarcadas por el término "mentol" como se usa en la presente memoria.

- 15 La forma más común de mentol que existe en la naturaleza es el estereoisómero (-)-mentol, al que se le asigna la configuración (1R, 2S, 5R) y tiene la siguiente estructura:



(-)- Mentol

- 20 La expresión "una fuente de iones de plata", como se usa en la presente memoria, describe un resto químico que genera iones de plata cuando está presente en un medio apropiado. Los iones de plata pueden generarse una vez que el compuesto se mezcla con el vehículo de la composición como se describe en la presente memoria (como en el caso de, por ejemplo, sales de plata solubles en agua en un vehículo acuoso). Como alternativa, los iones de plata pueden generarse por la descomposición de un complejo químico que contiene los iones de plata, descomposición que se produce una vez que el complejo se coloca en el vehículo de la composición. En tales complejos químicos, los iones de plata están generalmente involucrados en las interacciones de coordinación, mientras que en las sales de plata, los iones de plata están involucrados en interacciones iónicas.

- 30 En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable es una solución acuosa. En estas realizaciones, la fuente de iones de plata es preferiblemente una sal de plata soluble en agua tal como, por ejemplo, nitrato de plata, acetato de plata y la sulfadiazina de plata parcialmente soluble en agua.

- 35 Ejemplos no limitantes de fuentes de iones de plata que son adecuados para su uso en el contexto de las presentes realizaciones incluyen nitrato de plata, sulfadiazina de plata y complejos de iones de plata tales como un complejo de aminoalcohol-ion de plata, un complejo de aminoácido-ion de plata y un complejo polímero-ion de plata.

- 40 La frase "complejo de aminoalcohol-ion de plata" describe un complejo de aminoalcohol (es decir, una molécula que contiene un grupo funcional amina y un grupo funcional alcohol) con iones de plata. Ejemplos no limitantes de tales complejos incluyen aminoetanol, alcohol aminopropílico, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol y alcohol amino butílico.

En algunas realizaciones, la concentración del componente aminoalcohol es de aproximadamente 50 mM.

- 45 La frase "complejo de aminoácido-ion de plata" describe un complejo de un aminoácido (es decir, una molécula que contiene un grupo funcional amina y un grupo funcional ácido carboxílico) con iones de plata. En algunas realizaciones, el aminoácido se selecciona del grupo de aminoácidos naturales, aminoácidos no naturales y análogos de aminoácidos. Ejemplos no limitantes de tales complejos incluyen un complejo de histidina-plata (I), un complejo de serina-plata y un complejo de lisina-plata.

- 50 La frase "complejo de polímero-ion de plata" describe un complejo de un polímero con iones de plata. El polímero en tal complejo debería tener uno o más grupos funcionales (por ejemplo, hidroxilo, amina, oxo (=O), carboxilato, amida y similares) que coordinativamente interactúan con los iones de plata. El polímero puede ser un polímero sintético, natural o semisintético y es preferiblemente biocompatible. Ejemplos no limitantes de tales complejos de polímero-iones de plata incluyen complejo de polivinilpirrolidona (PVP)-ion de plata, complejo de poliácridamida-ion de plata y complejo de polilisina-ion de plata.

De acuerdo con algunas realizaciones, el complejo de polímero-ion de plata es el complejo de polivinilpirrolidona (PVP)-ion de plata.

La polivinilpirrolidona es un polímero soluble en agua con un excelente perfil de seguridad y una amplia variedad de aplicaciones en la medicina, la farmacología, la cosmética y la producción industrial. La polivinilpirrolidona forma fácilmente películas y se utiliza como un aglutinante en muchos comprimidos farmacéuticos.

En algunas realizaciones, donde la fuente de iones de plata es un complejo de polivinilpirrolidona-ion de plata, la concentración del polímero en la composición antiséptica varía de 0,2 % p/v al 10 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En la presente memoria, "% p/v" describe un porcentaje en peso de un componente o un agente en el volumen total de la composición. Así, por ejemplo, 1 % p/v describe 1 mg de un componente o un agente en 100 ml de la composición.

Las unidades "% p/v", mientras exprese una masa presente en un cierto volumen, también pueden ser expresadas como molaridad, es decir, moles por litro (M).

Las unidades "% v/v" describen un porcentaje en volumen de un componente o un agente en el volumen total de la composición.

Como se discutió anteriormente, los sorprendentes resultados de que el mentol y los iones de plata actúan en sinergia, permiten la utilización de una composición antiséptica que contiene concentraciones reducidas de cada agente, en comparación con la concentración de cada agente que se utiliza generalmente para ejercer una actividad antiséptica, y obteniendo la actividad antiséptica deseada.

Por ejemplo, las soluciones antisépticas a base de nitrato de plata a una concentración de 0,5 % p/v se utilizan normalmente para tratar quemaduras graves [Sweetman SC (ed) Martindale: The complete drug reference 35, London: Pharmaceutical press, 2007].

Como se discutió más arriba, tal concentración es relativamente alta y se asocia con efectos adversos tales como la coloración y la irritación de la herida.

Una concentración de 0,5 % p/v de nitrato de plata corresponde a aproximadamente 30 mM.

La concentración de mentol en las composiciones conocidas en la actualidad para la administración tópica varía entre 0,25 % p/v aplicada a la membrana mucosa nasal por fiebre alta y catarro (un grueso exudado de moco) y hasta 20 % p/v para el tratamiento de la neuralgia, la ciática y el lumbago.

El intervalo de concentración de mentol anterior corresponde a aproximadamente 15 mM a aproximadamente 1,3 mM.

Hay que señalar en la presente memoria que, aunque se conocen las propiedades antisépticas del mentol, no se ha podido encontrar en la técnica una indicación de una concentración recomendada de mentol en la composición antiséptica.

Como se ejemplifica en la sección de Ejemplos siguiente, las soluciones de nitrato de plata de concentraciones inferiores a las actualmente aceptables en composiciones antisépticas (es decir, de 0,005 % p/v a 0,01 % p/v, que corresponde a un intervalo de aproximadamente 0,29 mM a aproximadamente 0,6 mM) tienen una actividad antiséptica limitada, salvo que se combine con el mentol (véase la Tabla 1). La adición de mentol, a las concentraciones, como se reivindica, conduce a una mejora sustancial de la actividad antiséptica.

Como se ejemplifica adicionalmente en la sección de Ejemplos siguiente, se demuestra la actividad antiséptica limitada de las soluciones de nitrato de plata en las concentraciones más bajas indicadas anteriormente, además de la duración de tiempo requerida para presentar una actividad bactericida (véase la Tabla 2). La adición de bajas concentraciones de mentol como se reivindica conduce a la reducción sustancial de esta duración de tiempo.

Sin estar ligado a ninguna teoría particular, se plantea la hipótesis de que la, actividad antiséptica sinérgica observada cuando los iones de plata se administran junto con mentol, tiene como resultado, además de la actividad antiséptica ejercida por el mentol, la capacidad del mentol para actuar como un potenciador de la penetración, lo que mejora la velocidad de penetración y la cantidad de iones de plata que penetran en un área infectada y/o en las células microbianas.

De acuerdo con una divulgación, la concentración de mentol en la composición antiséptica descrita en la presente memoria varía de aproximadamente 0,3 mM a aproximadamente 35 mM. Este intervalo de concentración corresponde a una concentración de mentol en % p/v en un intervalo de 0,005 % p/v a 0,5 % p/v, basado en el

volumen total de la composición antiséptica.

En algunas divulgaciones, la concentración de mentol varía de aproximadamente 0,6 mM a aproximadamente 6,4 mM. Este intervalo de concentración molar corresponde a una concentración de mentol en % p/v en un intervalo de 0,01 % p/v a 0,1 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En algunas divulgaciones, la concentración de la fuente de iones de plata se selecciona a fin de proporcionar una concentración de los iones de plata en la composición que varía de aproximadamente 0,05 mM a aproximadamente 6 mM.

Por lo tanto, en algunas divulgaciones la concentración de la fuente de iones de plata es tal que la concentración de iones de plata en la composición es, por ejemplo, 0,05 mM, 0,06 mM, 0,07 mM, 0,08 mM, 0,09 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM, 0,4 mM, 0,5 mM, 0,6 mM, 0,7 mM, 0,8 mM, 0,9 mM, 1 mM, 1,5 mM, 2 mM, 2,5 mM, 3 mM, 3,5 mM, 4 mM, 4,5 mM, 5 mM, 5,5 mM o 6 mM. También se contempla cualquier otro valor de la concentración iones de plata entre 0,05 mM y 6 mM.

En algunas divulgaciones, la fuente de iones plata es AgNO_3 y la concentración del AgNO_3 varía de 0,001 % p/v a 0,5 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica. En algunas divulgaciones, el intervalo de concentración del AgNO_3 es de 0,005 % p/v a 0,01 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica. En algunas divulgaciones, la concentración del AgNO_3 varía de 0,001 % p/v a 0,5 % p/v y la concentración del mentol varía de 0,005 % p/v a 0,5 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica. En algunas divulgaciones, la concentración del AgNO_3 varía de 0,001 % p/v a 0,5 % p/v y la concentración del mentol varía de 0,005 % p/v a 0,5 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

Una concentración de la fuente de iones de plata que proporciona una concentración de iones de plata de este tipo puede fácilmente determinarse en base a la solubilidad y/o el grado de descomposición de la fuente de iones de plata en el vehículo seleccionado, su peso molecular y el número de iones de plata que se generan a partir de cada molécula de la fuente de iones de plata.

En algunas divulgaciones, la concentración de iones de plata varía de 0,29 mM a 0,6 mM.

La concentración de iones de plata presentes en la composición antiséptica descrita en la presente memoria puede por lo tanto ser, por ejemplo, 0,06 mM (0,001 % p/v AgNO_3), 0,29 mM (0,005 % p/v AgNO_3), 0,6 mM (0,01 % p/v AgNO_3), 2,9 mM (0,05 % p/v AgNO_3) o 5,9 mM (0,1 % p/v AgNO_3), siendo todas ellas sustancialmente menores que la concentración de iones de plata comúnmente utilizada en las composiciones antisépticas actualmente disponibles.

En algunas divulgaciones, la concentración de los iones de plata varía de 0,05 mM a 6 mM y la concentración del mentol varía de 0,29 mM a 32 mM.

En algunas divulgaciones, la concentración de los iones de plata varía de 0,29 mM a 0,6 mM y la concentración del mentol varía de 0,6 mM a 6,4 mM.

En una realización, la concentración de los iones de plata es 0,29 mM y la concentración del mentol es 6,4 mM.

En otra realización, la concentración de los iones de plata es 0,29 mM y la concentración del mentol es 3,2 mM.

En una divulgación, la concentración de los iones de plata es 0,29 mM y la concentración del mentol es 0,64 mM.

En otra realización, la concentración de los iones de plata es 0,44 mM y la concentración del mentol es 3,2 mM.

En otra realización, la concentración de los iones de plata es 0,6 mM y la concentración del mentol es 3,2 mM.

En otra realización, la concentración de los iones de plata es 0,6 mM y la concentración del mentol es 0,64 mM.

En otra realización, cuando la fuente de iones de plata es AgNO_3 , la concentración del AgNO_3 es 0,01 % p/v y la concentración del mentol es 0,05 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En otra realización, la concentración del AgNO_3 es 0,01 % p/v y la concentración del mentol es 0,01 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En otra realización, la concentración del AgNO_3 es 0,0075 % p/v y la concentración del mentol es 0,05 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En otra realización, la concentración del AgNO_3 es 0,005 % p/v, y la concentración del mentol es 0,1 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En otra realización, la concentración del AgNO_3 es 0,005 % p/v y la concentración del mentol es 0,05 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

5 En una divulgación, la concentración del AgNO_3 es 0,005 % p/v y la concentración del mentol es 0,01 % p/v, basado en el volumen total de la composición antiséptica.

En algunas realizaciones de la invención, la composición antiséptica que se reivindica en la presente memoria comprende además un agente hiperosmótico.

10 La frase "agente hiperosmótico", como se usa en la presente memoria, describe un agente que aumenta la presión osmótica en un sitio donde se aplica. Un agente hiperosmótico tiene como objetivo aumentar la presión osmótica alrededor de microorganismos tales como bacterias, con el fin de destruir o inhibir el crecimiento del microorganismo. Una composición que comprende un agente hiperosmótico tiene una presión osmótica más alta que el fluido isotónico. Generalmente, dicha composición tiene una presión osmótica más alta que una presión fisiológica.

15 Ejemplos de agentes hiperosmóticos que son adecuados para su uso en el contexto de las realizaciones de la invención incluyen, pero no se limitan a, glicerol, polietilenglicol (PEG), un polisacárido, manitol y cualquier combinación de los mismos.

20 En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico es compatible con la fuente de iones de plata y el mentol, de tal manera que no se produce precipitación cuando está presente en la composición antiséptica.

25 En consecuencia, se selecciona una concentración del agente hiperosmótico que sea compatible con su solubilidad en el vehículo farmacéuticamente aceptable utilizado en la composición antiséptica, a fin de proporcionar una composición con una presión osmótica que es más alta que la de una solución isotónica.

En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico es biocompatible.

30 Como se usa en la presente memoria, el término "biocompatible", describe un agente o composición que es no tóxico y no inmunogénico cuando se aplica a un órgano, célula o tejido vivo.

En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico es glicerol.

35 El glicerol es un compuesto químico denominado también comúnmente glicerina. Es un líquido incoloro, inodoro, viscoso y que tiene baja toxicidad y que es ampliamente utilizado en las formulaciones farmacéuticas.

40 El glicerol está presente preferiblemente en la composición antiséptica en una concentración de 3 % v/v a 15 % v/v, basado en el volumen total de la composición.

Como se usa en la presente memoria y en la técnica, una unidad de concentración de "% v/v" describe el porcentaje en volumen de un agente o componente respecto al volumen total de la composición. Así, por ejemplo, 1 % v/v representa 1 ml de un agente o componente en una composición de 100 ml.

45 En algunas realizaciones, la concentración de glicerol es 10 % v/v.

En algunas realizaciones, el agente hiperosmótico es polietilenglicol (PEG).

50 El PEG es un polímero flexible, no tóxico (biocompatible) soluble en agua. Los PEG están comercialmente disponibles en un amplio intervalo de pesos moleculares, que van de 300 DA a 10.000 KDa. Debido a sus características, el PEG se puede utilizar para crear presiones osmóticas.

55 Ejemplos de PEG que son adecuados para su uso en este contexto de las realizaciones presentes incluyen, pero no se limitan a, PEG de bajo peso molecular comercialmente disponibles tales como PEG 200 (Da), PEG 300 (Da) y PEG 400 (Da). El PEG está presente preferiblemente en la composición antiséptica en una concentración de 8 % a 16 % v/v, basado en el volumen total de la composición.

60 Como se discutió anteriormente, se ha demostrado que una composición antiséptica como se describe en la presente memoria forma una solución clara, desprovista de precipitados. Tales composiciones son ventajosas ya que pueden aplicarse fácilmente sobre superficies utilizando cualquier técnica disponible para la aplicación tópica.

En algunos casos, los agentes solubilizante, o cualquier otro agente, se añaden a la composición con el fin de facilitar la completa disolución de sus componentes.

65 Así, de acuerdo con algunas realizaciones de la invención, la composición comprende además un agente solubilizante.

La expresión "agente solubilizante", como se usa en la presente memoria y en la técnica, describe un agente químico que es capaz de facilitar la disolución de los componentes insolubles o poco solubles en una solución que contiene el mismo.

- 5 Un agente solubilizante, de acuerdo con algunas realizaciones de la invención, debe ser compatible con la fuente de iones de plata usada, a fin de evitar la precipitación de sales de plata no solubles.

Hay que señalar en la presente memoria que la mayoría de las sales de plata son insolubles o tienen una solubilidad limitada en soluciones acuosas y, por lo tanto, cualquier componente que se añada a la composición antiséptica descrita en la presente memoria debe ser considerada en cuanto a su efecto sobre la solubilidad de la plata en la composición, con el fin de mantener una concentración efectiva de iones de plata solubles en la composición.

Ejemplos representativos de agentes solubilizantes que son utilizables en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, solubilizantes formadores de complejos, tales como ciclodextrina, polivinilpirrolidona y solubilizantes formadores de micelas tales como Tweens y los Spans, por ejemplo, TWEEN 80 y TWEEN 20. Otros agentes solubilizantes que son utilizables en el contexto de las realizaciones de la invención incluyen, por ejemplo, éster de ácido graso de sorbitán polioxietilenado, éteres de n-alkil polioxietilenados, N-óxidos de N-alkil amina, poloxámeros, disolventes orgánicos, fosfolípidos y ciclodextrinas.

20 La selección del agente solubilizante se basa en que sea compatible con los iones de plata sin causar la precipitación de la plata en el vehículo seleccionado.

Como se describe en la sección de Ejemplos siguiente, el mentol se utiliza en la composición descrita en la presente memoria en combinación con un agente solubilizante apropiado, tal como TWEEN 20 y similares. El agente solubilizante facilita la formación de una solución estable y transparente que contiene la fuente de iones plata y el mentol.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, el agente solubilizante es TWEEN 20. De acuerdo con algunas realizaciones, la relación entre el mentol y el TWEEN 20 es 1:10, por ejemplo, 0,05 % p/v mentol y 0,5 % p/v TWEEN 20.

Sin estar ligado a ninguna teoría particular, se sugiere que la adición de TWEEN 20 a la composición antiséptica descrita en la presente memoria puede proporcionar adicionalmente un aumento de la actividad de la composición debido a la mayor propiedad de penetración del TWEEN 20. Por lo tanto, se puede sugerir que los iones de plata, el mentol y el TWEEN 20, actúan todos en sinergia, lo que permite además utilizar beneficiosamente bajas concentraciones de iones de plata en la composición antiséptica a la vez que exhibe la actividad deseada.

La composición antiséptica descrita en la presente memoria puede comprender además componentes adicionales, que tienen por objeto mejorar o facilitar su preparación, aplicación y/o rendimiento. Tales componentes adicionales incluyen, por ejemplo, agentes anti-irritantes, antiespumantes, humectantes, desodorantes, antitranspirantes, agentes ajustadores del pH, conservantes, emulsionantes, agentes oclusivos, emolientes, espesantes, potenciadores de la penetración, colorantes, propelentes (dependiendo de la forma final de la composición) y tensioactivos.

Ejemplos representativos de agentes humectantes que son utilizables en este contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, guanidina, ácido glicólico y sales de glicolato (por ejemplo sal de amonio y sal de alquilamonio cuaternario), aloe vera en cualquiera de sus variedades de formas (por ejemplo, gel de aloe vera), alantoína, urazol, alcoholes polihidroxilados tales como sorbitol, glicerol, hexanotriol, propilenglicol, butilenglicol, hexilenglicol y similares, polietilenglicoles, azúcares y almidones, azúcar y derivados de almidón (por ejemplo, glucosa alcoxilada), ácido hialurónico, lactamida monoetanolamina, acetamida monoetanolamina y cualquier combinación de los mismos.

Agentes ajustadores del pH adecuados incluyen, por ejemplo, tampones de tris-imidazol trimetilamina y otras soluciones tampón compatibles con los otros componentes que no provoquen la precipitación de cualquiera de los componentes.

Ejemplos representativos de agentes desodorantes que son utilizables en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, sin limitación, 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxi difenil éter y diaminoalquil amidas, tales como L-lisina hexadecil amida.

Conservantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, sin limitación, uno o más alcoholes, parabenos, tales como metilparabeno y propilparabeno, propilenglicoles, sorbatos, derivados de urea tales como diazolidinil urea o cualquier combinación de los mismos.

Emulsionantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, por ejemplo, uno o más sorbitanos, alcoholes grasos alcoxilados, alquilpoliglicósidos, jabones, sulfatos de alquilo o cualquiera de sus combinaciones.

- Agentes oclusivos adecuados que se pueden utilizar en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, por ejemplo, vaselina, aceite mineral, cera de abejas, aceite de silicona, lanolina y derivados de lanolina solubles en aceite, alcoholes grasos saturados e insaturados tales como alcohol behenílico, hidrocarburos tales como escualano y diversos aceites animales y vegetales, tales como el aceite de almendras, aceite de cacahuete, aceite de germen de trigo, aceite de linaza, aceite de jojoba, aceite de hueso de albaricoque, nueces, nueces de palma, pistachos, semillas de sésamo, semillas de colza, aceite de cade, aceite de maíz, aceite de hueso de melocotón, aceite de semilla de amapola, aceite de pino, aceite de ricino, aceite de soja, aceite de aguacate, aceite de cártamo, aceite de coco, aceite de avellana, aceite de oliva, aceite de semilla de uva y aceite de semilla de girasol.
- Emolientes adecuados, que se pueden utilizar en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, por ejemplo, dodecano, escualano, colesterol, isohexadecano, isononanoato de isononilo, PPG éteres, vaselina, lanolina, aceite de cártamo, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de palmiste, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de soja, ésteres de ácido poliolcarboxílico, derivados de los mismos y mezclas de los mismos.
- Espesantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, por ejemplo, polímeros no iónicos solubles en agua, tales como hidroxietilcelulosa (disponible comercialmente bajo la marca comercial Natrosol® 250 o 350), polímeros catiónicos solubles en agua tales como Polyquat 37 (disponible comercialmente bajo la marca comercial Synthalen® CN), alcoholes grasos y mezclas de los mismos.
- Potenciadores de la penetración adecuados que pueden usarse en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol monolaurato (PEGML), propilenglicol (PG), propilenglicol monolaurato (PGML), glicerol monolaurato (GML), lecitina, azacicloheptan-2-onas 1-sustituidas, particularmente la 1-n-dodecilciclazacicloheptan-2-ona (disponible bajo la marca comercial Azone® de Whitby Research Incorporated, Richmond, Va.), alcoholes, mentol, TWEENS tales como TWEEN 20, y similares. El potenciador de la penetración también puede ser un aceite vegetal. Tales aceites incluyen, por ejemplo, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón y aceite de maíz.
- Anti-irritantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de las presentes realizaciones incluyen, por ejemplo, agentes anti-inflamatorios esteroideos y no esteroideos u otros materiales tales como mentol, aloe vera, manzanilla, alfa-bisabolol, extracto de Cola nitida, extracto de té verde, aceite de árbol de té, extracto de regalíz, alantoína, cafeína u otras xantinas, ácido glicirricico y sus derivados.
- Cualquiera de los componentes adicionales o agentes descritos en la presente memoria se selecciona preferiblemente de forma que sea compatible con los iones de plata, al menos dentro del intervalo de concentración que se utiliza dentro de la composición, de manera que no se produce la precipitación y no hay interferencia con la disponibilidad de los iones de plata en la composición.
- Cualquiera de los componentes adicionales descritos en la presente memoria se seleccionan preferiblemente además para que sean biocompatibles.
- Se observa que algunos agentes o componentes incluidos dentro de la composición pueden proporcionar un efecto doble. Por ejemplo, se utiliza mentol para actuar en sinergia con iones de plata para mejorar una actividad antiséptica, pero también es útil como un potenciador de la penetración y como un anti-irritante. El TWEEN 20 se puede utilizar como un agente solubilizante, pero también se sabe que actúa como un potenciador de la penetración.
- En algunas realizaciones, la composición antiséptica comprende además un agente terapéuticamente activo adicional, por ejemplo, un agente capaz de tratar la afección indicada, tal como se detalla en la presente memoria, o un agente capaz de desinfectar una superficie, como se detalla a continuación (por ejemplo, un corporal superficie).
- En algunas realizaciones, la composición antiséptica comprende además un agente capaz de prevenir, reducir o inhibir el crecimiento de un microorganismo, por ejemplo, bacterias u hongos, o un agente capaz de reducir la carga de un microorganismo.
- En algunas realizaciones, la composición antiséptica comprende además un agente adicional que es capaz de tratar una herida, como se describe en la presente memoria. Ejemplos de agentes terapéuticamente activos adicionales incluyen, pero no se limitan a, betaína y polihexadina.
- La composición antiséptica descrita en la presente memoria se formula junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable y adecuado.
- Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", describe un vehículo o un diluyente que se utiliza para facilitar la administración de la composición y que no provoca irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades de los compuestos activos administrados. Ejemplos, sin limitaciones, de vehículos incluyen agua, soluciones acuosas tamponadas, propilenglicol, emulsiones y mezclas de disolventes orgánicos con agua, así como, por ejemplo, vehículos sólidos, por ejemplo, en polvo y gaseosos.

Las técnicas para la formulación y administración de fármacos pueden encontrarse en "Remington Pharmaceutical Sciences" Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición, que se incorpora aquí por referencia.

- 5 Las composiciones antisépticas para su uso de acuerdo con las presentes realizaciones, por lo tanto, se pueden formular de manera convencional usando uno o más vehículos, excipientes y/o auxiliares farmacéuticamente aceptables, que facilitan el procesamiento de los compuestos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada.
- 10 La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden ser elegidas por el médico individual en vista del estado del paciente (véase, por ejemplo, Fingl et al., 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", cap. 1 p.1).
- 15 El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser un vehículo orgánico o un vehículo acuoso. En algunas realizaciones, el vehículo es un vehículo acuoso, en el que la fuente de iones de plata es soluble. En algunas realizaciones, el vehículo acuoso es una solución tampón.
- 20 Un vehículo acuoso comprende preferiblemente agua de grado inyectable, es decir, "agua para inyección" de grado USP. Sin embargo, pueden ser adecuadas otras formas de agua purificada, tales como, por ejemplo, agua destilada y desionizada.
- 25 Se prefieren las formulaciones acuosas ya que estas formulaciones son suaves tanto para la piel como para el tejido de la mucosa y son adecuadas para su uso en heridas abiertas. Sin embargo, también se contemplan formulaciones no acuosas. Por ejemplo, en casos donde la composición antiséptica está en una forma de una pasta o una emulsión, se pueden usar vehículos no acuosos o vehículos mixtos de vehículos acuosos y orgánicos, siempre y cuando los iones de plata se generan en el vehículo.
- 30 La composición antiséptica puede formularse para la administración, ya sea en una o más rutas, dependiendo de la zona a tratar.
- 35 De acuerdo con algunas realizaciones, la composición antiséptica es formulada para aplicación tópica, como una forma farmacéutica tópica.
- 40 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "forma farmacéutica tópica" describe una forma farmacéutica adecuada para la administración tópica a la zona tratada.
- 45 Al seleccionar el vehículo apropiado y, opcionalmente, otros componentes que se pueden incluir en la composición, las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria pueden formularse en cualquier forma normalmente empleada para la aplicación tópica. Por lo tanto, las composiciones descritas en la presente memoria pueden estar, por ejemplo, en una forma de una crema, una pomada, una pasta, un gel, una loción, una leche, una solución, un aerosol, una pulverización, una espuma, una gasa, una toallita, una esponja, una tela no tejida, una tela de algodón, una compresa, un parche y una almohadilla.
- 50 Ejemplos de formas farmacéuticas tópicas incluyen, pero no se limitan a, una crema, un aerosol, una gasa, una toallita, una esponja, telas no tejidas, una tela de algodón, una espuma, una solución, una loción, una pomada, una pasta y un gel.
- 55 Tales formas farmacéuticas tópicas pueden comprender además opcionalmente un adhesivo, para facilitar la aplicación tópica de la composición sobre la zona tratada durante un período de tiempo prolongado.
- 60 En algunas realizaciones, la composición antiséptica se formula como un depósito de líquido, que se aplica en forma de gotas, pulverización, aerosol, líquido, espuma y similares. Los vehículos adecuados y otros componentes son los utilizados en estos casos. Por ejemplo, para la aplicación como un aerosol o de espuma, se utiliza un propelente.
- 65 En algunas realizaciones, la composición antiséptica se formula como una crema. Un ejemplo de formulación de crema se puede obtener mediante la mezcla de la composición antiséptica descrita en la presente memoria con un vehículo que comprende derivados de celulosa tales como acetato de celulosa, hidroxietilcelulosa y/o un polietilenglicol.
- La cantidad de una composición para ser administrada dependerá, por supuesto, del sujeto que se está tratando, la gravedad de la afección, la manera de administración, el juicio del médico que prescribe, etc.
- Las composiciones de la presente invención pueden, si se desea, presentarse en un envase o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA (Administración de Alimentos y Fármacos de los EE.UU.), que puede contener una o más formas farmacéuticas unitarias que contienen el principio activo. El envase puede comprender, por ejemplo, vidrio o una lámina de plástico. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado

de instrucciones para la administración. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado de una nota asociada con el envase en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos, nota que refleja la aprobación por la agencia de la forma de las composiciones para la administración humana o veterinaria. Tal nota, por ejemplo, puede ser parte de la ficha técnica aprobada por la Administración de Alimentos y Fármacos de los EE.UU. para medicamentos con receta o de un prospecto de un producto aprobado. Las composiciones de la invención formuladas en un vehículo farmacéutico compatible también pueden prepararse, colocarse en un envase apropiado y etiquetarse para fines de desinfección o para el tratamiento de las heridas, como se detalla en la presente memoria.

Las composiciones descritas en la presente memoria pueden envasarse o presentarse en cualquier forma conveniente. Por ejemplo, pueden envasarse en un tubo, una botella, un dispensador, un recipiente exprimible o un contenedor presurizado, utilizando técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica y como se expone en obras de referencia tales como Pharmaceutical Science de Remington 15ª Ed. Se prefiere que el envasado se haga de tal manera que se minimice el contacto de las composiciones no utilizadas con el medio ambiente, con el fin de minimizar la contaminación de las composiciones antes y después de abrir el envase.

Las composiciones descritas en la presente memoria se suministran preferiblemente en la concentración prevista para su uso, pero también se pueden preparar como concentrados que se diluyen antes de su uso. Por ejemplo, se contemplan los concentrados que requieren proporciones de dilución de 2:1 a 10:1 partes de vehículo (por ejemplo, agua) para su concentración. El límite superior del concentrado está limitado por la solubilidad y la compatibilidad de los diversos componentes en concentraciones más altas.

En algunas realizaciones, la composición antiséptica descrita en la presente memoria se envasa en un material de envasado y se identifica impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso en la desinfección de una superficie, tal como se describe en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la composición antiséptica descrita en la presente memoria se envasa en un material de envasado y se identifica impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso en la desinfección de una superficie corporal, como se detalla adicionalmente a continuación.

En algunas realizaciones, la composición antiséptica se envasa en un material de envasado y se identifica impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso en el tratamiento de heridas.

En algunas realizaciones, la composición antiséptica se envasa en un material de envasado y se identifica impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso en el tratamiento de una infección, se detalla adicionalmente a continuación.

La eficacia de las composiciones descritas en la presente memoria como desinfectantes y en el tratamiento de heridas está bien demostrada en la sección de Ejemplos siguiente.

En consecuencia, de acuerdo con un aspecto adicional de realizaciones de la invención, se proporciona un kit, que comprende la composición antiséptica descrita en la presente memoria, que se envasa en un material de envasado.

El kit puede ser etiquetado, por ejemplo, identificándose impreso, en o sobre el material de envasado, para su uso para fines de desinfección y/o para el tratamiento de heridas, como se detalla en la presente memoria.

Los componentes de la composición antiséptica pueden ser envasados dentro del kit o bien juntos, como una composición única, o al menos uno de los componentes se puede envasar individualmente. Cuando uno o más componentes se envasan individualmente, el kit además puede ser suministrado con instrucciones que indican la ruta de preparación de una composición antiséptica lista para su uso. Tales instrucciones pueden ser, por ejemplo, de acuerdo con el proceso de preparación de la composición antiséptica, como se describe en detalle a continuación.

De acuerdo con una divulgación, se proporciona un método de desinfección de un sustrato, que se efectúa mediante la aplicación de una cantidad eficaz de la composición antiséptica descrita en la presente memoria sobre el sustrato, desinfectando de este modo el sustrato.

Tal como se usa a lo largo de la presente memoria, el término "desinfección" se refiere a la reducción de la carga de microorganismo(s) en o sobre el sustrato, para reducir la tasa de crecimiento del microorganismo(s) en o sobre el sustrato, para inhibir o prevenir el crecimiento del microorganismo(s) en o sobre el sustrato y/o para erradicar el microorganismo(s) en o sobre el sustrato.

El término "sustrato" tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier estructura, producto o material que puede indeseablemente soportar, albergar o promover el crecimiento de un microorganismo en una superficie del mismo. Ejemplos no limitantes incluyen dispositivos médicos, equipos médicos, envases de productos médicos y farmacéuticos, materiales de envasado, equipos industriales y máquinas utilizadas en las industrias farmacéuticas,

médica, agrícola, de nutracéuticos y alimentos, paredes, edificios, almacenes, compartimento, contenedor o vehículo de transporte, un colorante o una pintura y otros materiales y compuestos industriales que requieren protección de sus superficies contra ataques microbianos, tales como, por ejemplo, materiales de construcción.

5 De acuerdo con algunas realizaciones, la aplicación de la composición antiséptica sobre el sustrato se efectúa mediante, por ejemplo, lavando el sustrato con la composición, difundiendo la composición sobre la superficie del sustrato, pulverizando la composición sobre el sustrato o sumergiendo el sustrato en la composición. La vía de aplicación depende, al menos en parte, de la forma de la composición.

10 De acuerdo con algunas realizaciones, el sustrato es una superficie corporal de un sujeto en necesidad del mismo.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "sujeto" se refiere a cualquier animal, por ejemplo, un mamífero, incluyendo, pero no limitado a, seres humanos, primates no humanos, mamíferos, roedores y cualquier otro animal, que ha de ser el destinatario de un tratamiento particular. Generalmente, los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en la presente memoria en referencia a un sujeto humano.

15 De acuerdo con algunas realizaciones, el método se efectúa mediante la aplicación tópica de la composición antiséptica sobre la superficie corporal. De acuerdo con algunas realizaciones, la superficie corporal es la piel, un tejido de la piel, un tejido de la mucosa o cualquier otra zona del cuerpo infectada o potencialmente infectada que puede beneficiarse de la aplicación tópica.

20 En consecuencia, una composición antiséptica como se describe en la presente memoria puede utilizarse para la desinfección de una zona infectada (por ejemplo, una herida aguda o crónica, como se detalla a continuación) o para la prevención de infecciones en las zonas que están en riesgo de ser infectadas. Estas últimas incluyen, por ejemplo, heridas quirúrgicas, heridas agudas, úlceras y similares, que son altamente susceptibles a las infecciones por diversos microorganismos.

25 Como se discutió anteriormente en la presente memoria, las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria han demostrado actividad bactericida eficaz contra varias cepas bacterianas, así como actividad fungicida eficaz contra diversas cepas de hongos. Por lo tanto, las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria pueden ser utilizadas en el tratamiento de heridas, donde la reducción de la carga microbiana en la herida es terapéuticamente beneficiosa.

30 De acuerdo con una divulgación, se proporciona un método de tratamiento de una herida en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo el método aplicar una cantidad eficaz de la composición antiséptica descrita en la presente memoria a la zona de la herida, tratando de este modo la herida.

35 De acuerdo con algunas divulgaciones, el método se lleva a cabo mediante la aplicación tópica de la composición antiséptica en el área de la herida.

40 El término "herida" usado en la presente memoria debe interpretarse de acuerdo con su significado más amplio con el fin de describir la piel o área de la mucosa dañada o alterada, con o sin la presencia de tejido desvitalizado o escaras y abarca cualquier tipo de herida, incluyendo, pero sin limitarse a, heridas agudas, heridas crónicas, heridas quirúrgicas, quemaduras y similares. La expresión "lesión de la piel", como se usa en la presente memoria describe la piel dañada y se utiliza de forma intercambiable con el término "herida" en toda la solicitud.

45 La expresión "área de la herida" describe el área adyacente a la herida. Esta zona se extiende generalmente desde inmediatamente adyacente a la herida hasta aproximadamente 30 cm. Se entiende que el límite interior de la zona periférica a la herida puede ajustarse a o ser paralelo a la forma de la herida.

50 La expresión "herida aguda" describe una herida causada por una abrasión traumática, laceración o por daños superficiales, y que con el tiempo se cura espontáneamente sin complicaciones a través de las fases normales de cicatrización de la herida (como hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación). Las heridas agudas, sin embargo, a menudo pueden complicarse si entran en contacto con microorganismos patógenos que pueden conducir a la infección local.

55 Las expresiones "herida de cirugía" y "herida quirúrgica", que se utilizan en la presente memoria de manera intercambiable, describen una herida que se forma como resultado de un procedimiento quirúrgico. Las infecciones de las heridas quirúrgicas son frecuentes, representando el 12 % de todas las infecciones adquiridas en los hospitales. La tasa de infección varía en función del tipo de cirugía realizada. Tasas especialmente altas están asociadas con cirugía contaminada, como la cirugía colorrectal o la cirugía retardada de heridas traumáticas. Las infecciones de las heridas quirúrgicas son causadas generalmente por la flora normal del paciente o por bacterias del medio ambiente o la piel del personal del hospital. El microorganismo más común que conduce a la infección de la herida quirúrgica es *Staphylococcus aureus*. Otros microorganismos causantes comunes incluyen otros aerobios gram-negativos, *Streptococcus* spp. y anaerobios.

El término "quemaduras" describe heridas causadas por calor, frío, electricidad, sustancias químicas, luz, radiación o fricción. Las heridas pueden ser muy variables en términos del tejido afectado, gravedad y complicaciones resultantes. El músculo, el hueso, los vasos sanguíneos y el tejido epidérmico pueden resultar dañados con el consiguiente dolor debido a una profunda lesión en las terminaciones nerviosas. Dependiendo de la ubicación afectada y el grado de gravedad, una víctima de quemaduras puede experimentar una amplia serie de complicaciones potencialmente fatales incluyendo shock, infección, desequilibrio electrolítico y dificultad respiratoria. La infección es la complicación más frecuente de las quemaduras y es la principal causa de muerte en víctimas de quemaduras. Más de 10.000 estadounidenses mueren cada año por complicaciones infecciosas de quemaduras. Los microorganismos patógenos que infectan comúnmente las heridas por quemadura incluyen, por ejemplo, las bacterias gram-positivas tales como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y bacterias gram-negativas tales como el complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*, *Pseudomonas aeruginosa* y especies de *Klebsiella*.

La expresión "herida crónica" describe una herida en el cual no hay formación de coágulo, que se producen normalmente en pacientes que están comprometidos en cierta manera y tienen menos probabilidades de curar. Ejemplos de heridas crónicas son úlceras cutáneas crónicas tales como úlceras diabéticas, úlceras por decúbito (úlceras por presión) y úlceras venosas.

La expresión "úlceras diabéticas" describe una herida causada por la combinación de factores asociados con la diabetes, tales como la disminución de la circulación, pérdida de sensibilidad, deformidades estructurales del pie y pérdida de la integridad de la piel. Una úlcera diabética puede ser una simple rotura en la piel, que no se cura de una manera oportuna y ordenada, o una herida que se extiende a estructuras profundas y hasta el hueso. Las úlceras diabéticas son a menudo los puntos de entrada de bacterias y organismos fúngicos para invadir el cuerpo y la causa de infección potencialmente mortal de las extremidades, a las que a menudo se hace referencia en la técnica como infección diabética. Las infecciones diabéticas son generalmente infecciones polimicrobianas causadas por múltiples microorganismos aerobios y anaerobios. *Staphylococcus aureus*, estreptococo beta-hemolítico, enterobacterias, *Bacteroides fragilis*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* son ejemplos de cepas que se cultivaron a partir de úlceras diabéticas.

La expresión "úlceras por decúbito", también conocidas como "úlceras por presión", describen lesiones de la piel causadas por factores variables tales como: presión continua; fricción; humedad; fuerzas de cizallamiento; temperatura; edad; continencia y medicación en cualquier parte del cuerpo, especialmente porciones sobre áreas óseas o cartilaginosas, tales como el sacro, los codos, las rodillas, los tobillos etc. Aunque fácilmente evitadas y totalmente curables si se detectan a tiempo, las úlceras de decúbito son a menudo fatales y son una de las causas principales de muerte iatrogénica descritas en los países desarrollados. Las úlceras de decúbito pueden ser causadas por una irrigación sanguínea insuficiente lo que da como resultado la lesión de reperusión cuando la sangre vuelve a entrar en el tejido. Los organismos más comunes aislados de las úlceras por presión son *Proteus mirabilis*, estreptococos del grupo D, *Escherichia coli*, especies de *Staphylococcus*, especies de *Pseudomonas* y *Corynebacterium*.

La expresión "úlceras venosas" describe heridas que se cree que ocurren debido a un mal funcionamiento de las válvulas en las venas, por lo general de las piernas, haciendo que la presión en las venas aumente. Esta es una de las principales causas de las heridas crónicas y que se produce en aproximadamente el 30-40 % de los casos de heridas crónicas. La mayoría de las úlceras venosas están fuertemente contaminadas con bacterias como *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Proteus* y *Pseudomonas*.

Como se discutió anteriormente, la reducción de la carga de célula bacterianas en las heridas agudas y heridas crónicas tales como úlceras diabéticas, úlceras por decúbito (úlceras por presión), úlcera venosa, así como quemaduras por las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria es terapéuticamente beneficiosa.

Como se discutió más arriba, se ha observado que las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria inhiben eficazmente el crecimiento de diversas cepas bacterianas. Por ejemplo, una solución de 0,01 % de iones de plata y 0,05 % de mentol, una composición de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, se ha demostrado que destruye de manera eficiente al entrar en contacto y prevenir el crecimiento de las cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 47076, *Klebsiella pneumoniae*, una cepa clínica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), una cepa clínica de *Staphylococcus epidermis*, una cepa clínica de *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de amplio espectro, una cepa clínica de *Acinetobacter baumannii* resistente a múltiples fármacos y una cepa clínica de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (Ver Tablas 3 y 4). Una solución de 0,01 % de iones de plata y 0,05 % de mentol, una composición de acuerdo con algunas realizaciones de la presente invención, además se ha demostrado que exhibe actividad fungicida contra una cepa clínica de *Trichophyton rubrum* y una cepa clínica de *Microsporum canis* (véase, el Ejemplo 6 a continuación y las Figuras 2-4). Por lo tanto, debido a su amplia actividad antiséptica contra varias cepas de bacterias y hongos, incluyendo cepas que son conocidas por ser aisladas de las áreas de la herida, las composiciones antisépticas descritas en la presente memoria pueden ser utilizadas de manera eficiente en el tratamiento de heridas.

Como se discute adicionalmente en la presente memoria y se demuestra en la sección de Ejemplos siguiente, las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria han demostrado que inhiben eficazmente el crecimiento del microorganismo y evitan eficazmente el crecimiento de diversos microorganismos en una muestra no estéril.

5 Por consiguiente, las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria se pueden utilizar en un método de tratamiento o prevención de una infección. La infección puede ser una infección bacteriana, una infección fúngica, una infección causada por una levadura, o cualquier combinación de los mismos.

10 La actividad antifúngica de la composición que contiene iones de plata y mentol, como se describe en la presente memoria presenta un gran potencial terapéutico en el contexto de las úlceras crónicas del pie diabético, así como en el contexto de tratamientos antifúngicos de la onicomycosis (infecciones de las uñas por hongos, causados principalmente por el dermatofito *Trichophyton rubrum*), la dermatofitosis tales como la *tinea pedis* (pie de atleta, también debido a *Trichophyton rubrum*) y la *tinea corporis* (invasión de la piel por dermatofitos) y la *tinea capitis* (tiña del cuero cabelludo e invasión del cuero cabelludo por dermatofitos) debido principalmente a *Microsporum canis*.

15 Existe una asociación significativa entre la diabetes y la aparición de infecciones fúngicas de los pies: mientras que en la población anciana no diabética la incidencia es del 60 %, en los sujetos diabéticos la incidencia se eleva a más del 80 %. La diabetes mellitus tiene un efecto adverso significativo en la ocurrencia de la *tinea pedis* y de la onicomycosis, afección que aumenta en una relación x 1,4. La onicomycosis, a menudo asociada con la *tinea pedis*, incrementa sustancialmente el riesgo de otras infecciones, formación de lesiones que eventualmente conduce a úlceras crónicas y amputaciones. La incidencia de *tinea pedis* en los pacientes diabéticos es de 32 % frente al 7 % de la población de control [Gupta AK, Humke S (2000) Eur J Dermatol 10:379-384; Saunte et al. (2006) Acta Derm Venereol 86:425-428].

20 El término "desinfección", como se usa a lo largo de la presente memoria, abarca por tanto el tratamiento de una infección, tal como se describe en la presente memoria.

25 Además, las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria también pueden ser utilizadas como conservantes, para prevenir o reducir la formación de carga microbiana en condiciones no estériles y/o en condiciones sospechosas de ser adversamente no estériles.

30 Por tanto, las composiciones antisépticas reivindicadas en la presente memoria se pueden añadir, por ejemplo, a contenedores de almacenamiento, en particular contenedores de almacenamiento para el almacenamiento y/o transporte de productos médicos, tales como dispositivos médicos, agentes farmacéuticamente activos y fármacos.

35 De acuerdo con aspectos adicionales de realizaciones de la invención, se proporciona un uso de la composición antiséptica reivindicada en la presente memoria en la fabricación de un producto para la desinfección de un sustrato, tal como se describe en la presente memoria.

40 De acuerdo con aspectos adicionales de realizaciones de la invención, se proporciona un uso de la composición antiséptica reivindicada en la presente memoria en la fabricación de un medicamento para la desinfección de una superficie de una zona corporal y/o para el tratamiento de heridas, como se describe en la presente memoria.

45 En cualquiera de los métodos y usos descritos en la presente memoria, las composiciones antisépticas se pueden aplicar a la zona tratada utilizando cualquier medio adecuado.

50 Por lo general, un absorbente de algún tipo, tales como gasa, esponjas de espuma, telas no tejidas, telas de algodón, hisopos o bolas de algodón y similares, se empapa con la composición y se aplica sobre la herida.

Como alternativa, la composición puede estar en una forma de una pulverización o aerosol, que puede comprender además, por ejemplo, un agente formador de película. La composición se aplica por lo tanto en la zona tratada por pulverización.

55 También como alternativa, la composición puede estar en una forma de una crema, una pasta o un gel y se aplica sobre la herida mediante la difusión, o mediante la aplicación de un parche adhesivo que comprende la composición.

60 También como alternativa y preferiblemente, se pueden lograr mayores tasas de curación de heridas mediante la aplicación de la composición antiséptica sobre y a través de la herida en flujo continuo de modo que las concentraciones de los agentes antisépticos y el agente hiperosmótico en contacto con la herida se mantienen constantes.

65 Por consiguiente, en algunas realizaciones de la invención, la aplicación tópica de la composición antiséptica descrita en la presente memoria se realiza por la transmisión de un flujo de la composición antiséptica sobre y a través de la zona de la herida.

- El flujo de las composiciones descritas en la presente memoria se transporta sobre y a través de la herida durante un período de tiempo predeterminado. Según algunas realizaciones, el transporte del flujo continuo se lleva a cabo durante por lo menos 5 minutos, en algunas realizaciones por lo menos 15 minutos, en algunas realizaciones por lo menos 30 minutos y en algunas realizaciones durante al menos 1 hora. La herida se controla para evaluar el progreso de la reducción de la carga microbiana y la cicatrización de la herida. Una pausa en el tratamiento por períodos cortos de tiempo puede llevarse a cabo deteniendo el flujo y la eliminación de cualquier conducto que impida un movimiento libre del paciente. Se puede dejar sobre la herida un apósito oclusivo a la que se vuelven a unir los conductos.
- El tratamiento puede ser aplicado usando un aparato como se describe en la solicitud de patente de los EE.UU. con n.º de Publicación 2004/0186421 o en el documento WO2005/070480, que se incorporan por referencia como si se expusieran en su totalidad en la presente memoria.
- De acuerdo a una divulgación ilustrativa, un aparato de este tipo comprende un alojamiento que tiene al menos una abertura formada en el mismo y medios para fijar el aparato a la piel alrededor de la circunferencia de la lesión de la piel, en el que el alojamiento comprende (i) al menos una entrada del tubo que tiene una primer eje longitudinal y que está configurado para ser ajustable a lo largo de su eje longitudinal a través de la abertura y (ii) al menos un tubo de salida que tiene un segundo eje longitudinal.
- El aparato comprende además un depósito adaptado para contener la composición antiséptica, estando el depósito en comunicación fluida con la una o más entradas. Una salida puede comprender válvulas para controlar el flujo entre el depósito y la zona de tratamiento. Preferiblemente, una salida puede comprender, además, medios que permiten desconectar y volver a conectar la carcasa del depósito, lo que permite poner en pausa el tratamiento.
- La simplicidad de desconectar y reconectar al paciente de los medios de flujo permite la aplicación de las composiciones antisépticas durante períodos prolongados de tiempo. Un flujo de la composición antiséptica puede durar al menos una hora o puede durar varias horas, dependiendo de las necesidades individuales.
- De acuerdo con algunas realizaciones, el flujo es inducido por la gravedad a partir de al menos un depósito que comprende la composición antiséptica.
- De acuerdo con algunas realizaciones, el flujo es inducido por una bomba en comunicación fluida con al menos un depósito que comprende la composición antiséptica.
- En algunas realizaciones, el flujo es inducido por una bomba peristáltica, que no está en contacto directo con la solución de transporte.
- De acuerdo con un aspecto adicional de realizaciones de la invención, se proporciona un proceso para la preparación de la composición antiséptica reivindicada en la presente memoria, comprendiendo el proceso la mezcla de la fuente de iones de plata, el mentol y el vehículo farmacéuticamente aceptable, a fin de obtener la composición antiséptica de acuerdo con la invención.
- De acuerdo con algunas realizaciones, el procedimiento comprende además la mezcla de un agente hiperosmótico con la composición.
- El orden de adición de los componentes de la composición (es decir, fuente de iones de plata, mentol, un vehículo farmacéuticamente aceptable y opcionalmente un agente hiperosmótico) puede variar, dependiendo, por ejemplo, de consideraciones de solubilización.
- Así, por ejemplo, el proceso puede llevarse a cabo mediante la preparación de una solución de una fuente de iones de plata y un vehículo y la adición al mismo de mentol. Como alternativa, el proceso puede llevarse a cabo mediante la preparación de una solución de mentol y un vehículo y añadiendo a la misma la fuente de iones de plata.
- El agente hiperosmótico, si está presente, se puede añadir antes o después de la adición de cualquiera de los iones de plata o del mentol. Del mismo modo, cualquier otro componente que se agregue a la composición, como se describe anteriormente en la presente memoria, se puede añadir en cualquier etapa.
- De acuerdo con algunas realizaciones, el proceso comprende además mezclar dicho mentol con un agente solubilizante tal como Tween 20, como se describe en la presente memoria, para obtener de este modo una solución de mentol y el agente solubilizante y mezclar dicha solución de mentol con la composición.
- En algunas realizaciones, el agente solubilizante es TWEEN 20. En algunas realizaciones, la relación en peso entre el mentol y el TWEEN 20 es 1:10. En algunas realizaciones, el TWEEN 20 se utiliza a una concentración de 0,5 % p/v basado en el volumen total de la solución de mentol y TWEEN 20.

En algunas divulgaciones, las cantidades de la fuente de iones de plata y el mentol son tales que tras la mezcla, la concentración final de los iones de plata es de 0,05 mM a 30 mM, y la concentración final de mentol es de 0,3 mM a 32 mM. En algunas realizaciones, la concentración final de la fuente de iones de plata es de 0,3 mM a 0,6 mM y la concentración final de mentol es de 0,6 mM a 6,4 mM.

Teniendo en cuenta el efecto sinérgico exhibido por la combinación de mentol y una fuente de iones de plata, que permite el uso de una concentración sustancialmente reducida de iones de plata, en comparación con productos antisépticos disponibles en la actualidad, de acuerdo con la divulgación, se proporciona un método para reducir una concentración de iones de plata en una composición antiséptica que comprende iones de plata (como principio activo). El método, de acuerdo con esta divulgación, se efectúa mediante la mezcla con una fuente de iones de plata, de una cantidad sinérgicamente eficaz de mentol.

En algunas divulgaciones, la concentración de los iones de plata se reduce en al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, al menos 9 veces, e incluso en un orden de magnitud, e incluso dos veces de la misma, o en 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces y 100 veces, en comparación con una composición antiséptica que carece de una cantidad sinérgicamente eficaz de mentol.

En algunas divulgaciones, la concentración de los iones de plata se reduce en unas 50 veces, en comparación con una composición antiséptica que carece de una cantidad sinérgicamente eficaz de mentol.

La frase "cantidad antiséptica eficaz" describe la cantidad de un agente, en la presente memoria, una fuente de iones de plata, que exhibe una actividad antiséptica, como se define en la presente memoria.

La frase "cantidad sinérgicamente eficaz" describe una concentración de mentol que se mezcla con la fuente de iones de plata en la composición antiséptica, lo que tiene como resultado un efecto sinérgico de la combinación de iones de plata y mentol, como se define en la presente memoria.

Además, se divulga un método para aumentar una actividad antiséptica de una composición antiséptica que comprende una fuente de iones de plata a una concentración que es menor que 6 mM, efectuándose el método mediante la mezcla con la composición antiséptica de una cantidad sinérgicamente eficaz de mentol.

La mezcla del mentol con la composición antiséptica puede efectuarse de acuerdo con el proceso de preparación de una composición antiséptica, como se describe en la presente memoria. En consecuencia, con los iones de plata también se pueden mezclar componentes adicionales, tales como un agente hiperosmótico y un agente solubilizante.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que son, para mayor claridad, descritas en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. A la inversa, diversas características de la invención, que por brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada o como adecuada en cualquier otra realización descrita de la invención. Ciertas características que se describen en el contexto de diversas realizaciones no han de considerarse las características esenciales de estas realizaciones, a menos que la realización sea inoperativa sin esos elementos.

Diversas realizaciones y aspectos de la presente invención como se esbozaron anteriormente en la presente memoria y como se reivindican en la sección de reivindicaciones a continuación encuentran apoyo experimental en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

Ahora se hace referencia a los siguientes ejemplos, que junto con las descripciones anteriores ilustran algunas realizaciones de la invención de una manera no limitativa.

MATERIALES Y METODOS EXPERIMENTALES

Materiales:

El medio LB se preparó disolviendo 10 gramos de triptona (N.º Cat.161200, Pronadisa, Conda), 5 gramos de extracto de levadura (N.º Cat. 212750, DIFCO), 10 gramos de NaCl (N.º Cat. 06404.1000, Merck) y 2 gramos de glucosa (N.º Cat. 1.08337.1000, Merck) en un volumen final de 1 litro de agua altamente purificada con agitación magnética y calentamiento suave. El LB-agar se preparó por la adición de 15 gramos de agar Bacto (N.º Cat. 214010, BD) a medio LB.

El medio de cultivo BHI se obtuvo del Laboratorio de Epidemiología Molecular y Resistencia a los Antimicrobianos, Tel Aviv Sourasky Medical Center.

El NaNO_3 se obtuvo de Riedel-Dehaen (N.º Cat. 31440).

Tween 20 (N.º Cat. 8.17072.1000), AgNO_3 (N.º Cat. 1.01510.0050), mentol (N.º Cat. 1.05995.1000), glicerol (N.º Cat. 1.04093.1000), Tris (N.º Cat. 1.08386.1000) y el ácido acético glacial (N.º Cat. 1.00056.2500) se obtuvieron de Merck.

Composiciones:

Las soluciones de nitrato de plata y mentol se prepararon mediante la adición de concentraciones finales de glicerol 10 % (agente hiperosmótico), mentol (Tween-20 0,5 %) y nitrato de plata a una solución tampón Tris 50 mM. La composición final se tituló hasta pH 7,45 con ácido acético glacial y después se filtró a través de un filtro de membrana de PES de 0,22 μm . Las soluciones estériles así obtenidas eran claras y carentes de precipitados.

Protocolos generales:

Protocolo de crecimiento de *E. coli*:

Un cultivo madre congelado de *E. coli* ATCC 47076 se cultivó durante la noche (1 ml en 9 ml de medio LB) en un incubador agitador (200 rpm a 37 °C) hasta que la $\text{DO}_{600\text{nm}}$ del medio alcanzó 1,6-1,8. A continuación se transfirieron alícuotas de un ml del medio de cultivo a 50 ml de medio LB estéril fresco y se colocaron en un incubador agitador (200 rpm a 37 °C) durante dos horas hasta que la $\text{DO}_{600\text{nm}}$ del medio alcanzó 0,6-0,8 (2×10^8 unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml)). La suspensión bacteriana se ajustó a 10^8 UFC/ml por dilución con medio estéril. A continuación, las células bacterianas se lavaron tres veces con NaNO_3 0,9 %. Los ciclos de lavado del NaNO_3 se llevaron a cabo transfiriendo 5 ml de las suspensiones bacterianas a tubos de ensayo de 15 ml y sometiendo la suspensión a centrifugación a 4000 rpm a 4 °C durante 5 minutos, seguido de la eliminación del sobrenadante y re-suspensión del sedimento celular bacteriano en 5 ml de NaNO_3 0,9 %.

La actividad bactericida de varias combinaciones de concentración de iones de plata (de AgNO_3) y mentol (solubilizado por la adición de TWEEN 20 0,5 %) se evaluó a continuación mediante la adición de 5 ml de las combinaciones ensayadas a los sedimentos de células bacterianas preparado como se describe a continuación y re-suspensión de los sedimentos celulares por vórtice. Un tubo de ensayo que contiene solo NaNO_3 0,9 % sirvió como control.

Las suspensiones bacterianas así obtenidas se transfirieron a tubos de vidrio estériles para reducir la posible adsorción de células a las paredes y se mantuvieron cubiertas a 37 °C durante todo el período de prueba. Después de 5 minutos de incubación estática, se extrajeron muestras de 100 μl de la suspensión bacteriana tratada y se añadieron por goteo 10 μl de diluciones decimales en NaNO_3 0,9 % de la suspensión sobre placas de agar LB. El nivel de proliferación bacteriana se evaluó contando el número de colonias que crecieron en las placas y calculando las UFC/ml y el $\log_{10}$ UFC/ml después de 18 horas de incubación a 37 °C. Un $\log_{10}$ UFC/ml más alto calculado para una suspensión bacteriana, incubada con una combinación específica, es indicativo de un nivel más bajo de la actividad bactericida de dicha combinación.

Protocolo de crecimiento de otras líneas celulares bacterianas:

Se obtuvieron varias líneas de células bacterianas de la colección de cepas clínicas del Laboratorio de Epidemiología Molecular y Resistencia a los Antimicrobianos, Tel Aviv Sourasky Medical Center. La actividad bactericida de las combinaciones antisépticas ensayadas fue de este modo ensayada contra *Klebsiella pneumoniae*, una cepa clínica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), una cepa clínica de *Staphylococcus epidermis*, una cepa clínica de *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de amplio espectro, una cepa clínica de *Acinetobacter baumannii* resistente a múltiples fármacos y una cepa clínica de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a múltiples fármacos.

El protocolo de crecimiento bacteriano fue esencialmente como se describe anteriormente solamente que las líneas celulares bacterianas se cultivaron en medio de crecimiento BHI (y siguiendo el crecimiento de las células en el medio, la suspensión bacteriana se ajustó a 10^7 UFC/ml por dilución con medio estéril). Además, en estos experimentos, la incubación estática de cada suspensión bacteriana con la combinación de iones de plata + mentol era de 0, 30 y 60 minutos.

Sinergia:

Para evaluar si el mentol y los iones de plata actúan de forma sinérgica, la actividad bactericida observada cuando el mentol y los iones de plata se administraban juntos se comparó con la actividad bactericida observada cuando cada uno de estos compuestos se administraba solo (determinado según Lehmann, 2000. Synergism in Disinfectant Formulation, in Disinfection, Sterilization, and Preservation 5th ed., S.S. Block, Editor. Lippincott Williams and Wilkins. pp. 459-472).

Se consideró que una combinación era sinérgica cuando:

La actividad bactericida del mentol y de los iones de plata era mayor que el valor aditivo de la actividad bactericida observada cuando cada compuesto se ensayaba, a la concentración específica, solo; o

El tiempo, hasta que se detecta un cierto nivel de actividad bactericida del mentol y de los iones de plata, era más corto que el tiempo medido cuando cada se ensayaba cada agente, a la concentración específica, solo.

EJEMPLO 1

Sinergismo de la actividad bactericida del mentol y de los iones de plata en una solución hiperosmótica de glicerol 10 % (v/v) en E. coli ATCC 47076

Para la evaluación de la sinergia en la actividad bactericida entre el mentol y los iones de plata, se utilizaron varias combinaciones de concentración de iones de plata y mentol, como se detalla en la Tabla 1.

Los resultados se resumen en la Tabla 1 y muestran que se observaba sinergia para los iones de plata (derivado de AgNO_3) y combinaciones de mentol de 0,005 % (p/v) + 0,1 % (p/v), 0,005 % + 0,05 %, 0,0075 % + 0,05 %, 0,01 % + 0,05 % y 0,01 % + 0,01 % p/v, respectivamente (correspondiente a las zonas sombreadas de la Tabla 1). Estas concentraciones corresponden a las combinaciones de iones de plata y mentol en las siguientes combinaciones: 0,29 mM + 6,4 mM, 0,29 mM + 3,2 mM, 0,44 mM + 3,2 mM, 0,6 mM + 3,2 mM y 0,6 mM + 0,64 mM.

En la parte izquierda de la Tabla 1 se presenta el porcentaje observado de las células bacterianas destruidas por cada combinación mientras que en la parte derecha de la Tabla 1 se presenta el porcentaje esperado de las células bacterianas destruidas si la actividad bactericida del mentol y de los iones de plata era de naturaleza aditiva en lugar de sinérgica.

Tabla 1

% Mentol	% AgNO_3							
	Valores medidos ^a				Valores acumulados calculados ^b			
	0,01	0,0075	0,005	0	0,01	0,0075	0,005	0
0,1	100	100	100	51	112	115	66	51
0,05	100	100	100	20	81	84	35	20
0,01	100	56	48	0	61	64	15	0
0	61	64	15	0	61	64	15	0

^a porcentaje de células de *E. coli* destruidas por la exposición a la combinación de mentol y AgNO_3 .

^b porcentaje esperado de células de *E. coli* destruidas, por la combinación indicada cuando se supone una actividad aditiva y no sinérgica entre el mentol y los iones de plata.

Se seleccionó la combinación sinérgica de 0,01 % de iones de plata y 0,05 % de mentol para estudios adicionales.

EJEMPLO 2

Actividad bactericida de una combinación de iones de plata 0,01 % (p/v) y mentol 0,05 % (p/v) en una solución hiperosmótica que contiene glicerol 10 % (v/v) en varios tipos de bacterias

Se evaluó el efecto de una combinación de iones de plata 0,01 % y mentol 0,05 % (solubilizado por TWEEN 20 0,5 % (v/v) sobre el crecimiento y la viabilidad de diferentes tipos de bacterias.

Las células incubadas con una solución de NaNO_3 0,9 % (p/v) solo, sin la adición de ningún agente antiséptico, sirvió como control.

La actividad bactericida se definió como una reducción de 5-log_{10} o menor en el recuento de colonias en comparación con el control (según Crémieux, Methods of testing Disinfectants, in Disinfection, Sterilization, and Preservation 5th ed., S.S. Block, Editor. 2000, Lippincott Williams and Wilkins, pp 1305-1328).

La Tabla 2 presenta el $\log_{10}$ UFC/ml calculado para los diferentes tipos de suspensiones de células bacterianas incubadas durante 0, 30 y 60 minutos sin agente antiséptico (control) o con iones de plata 0,01 % (AgNO_3 0,01 %)

solo, mentol 0,05 % solo o una combinación de iones de plata 0,01 % y mentol 0,05 %. Se definió un nivel basal como el crecimiento de las bacterias observado en el tiempo 0 cuando no se añadió agente antiséptico a la suspensión bacteriana.

- 5 Los resultados demuestran claramente la erradicación completa de la viabilidad bacteriana tras la incubación de la suspensión bacteriana con la combinación de iones de plata 0,01 % y mentol 0,05 %. El efecto fue evidente de inmediato (en el punto de tiempo 0) con la única excepción en el caso de una cepa clínica de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en cuyo caso se observó inmediatamente una reducción del 50 % en la viabilidad seguido por la muerte de todas las bacterias después de 30 minutos.

10

Tabla 2

Bacteria	Basal	Control^a			AgNO₃ 0,01 %^a			Mentol 0,05 %^a			AgNO₃ 0,01 % y Mentol 0,05 %^a		
		0	30	60	0	30	60	0	30	60	0	30	60
<i>Escherichia coli</i> ATCC 47076	7,3	7,3	7,3	7,3	6,4	0	0	5,3	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,8	6,8	6,7	6,5	0	0	0	6,2	4,9	3,8	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,1	6,1	6,1	6,1	5,4	0	0	6,3	6,3	6,2	3, 4	0	0
<i>Staphylococcus epidermis</i>	5,4	5,4	5,3	5,2	0	0	0	5,4	5,4	5,3	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> productora de beta-lactamasa	5,9	5,9	5,8	5,6	4,8	0	0	4,9	4,9	4,9	0	0	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6,4	6,4	6,4	6,4	6,3	0	0	6,4	6,3	6,2	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,5	6,5	6,5	7,1	5,1	0	0	5,8	3,5	2,5	0	0	0

a log10 UFC/ml de bacterias cuando las suspensiones bacterianas se trataban con el tratamiento indicado durante 0, 30 y 60 minutos.

Estos resultados apuntan a una actividad bactericida sinérgica exhibida por la combinación de iones de plata y mentol.

15

EJEMPLO 3

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y de la concentración bactericida mínima (CBM) de una combinación de iones de plata 0,01 % (p/v) y mentol 0,05 % (p/v)

20

Generalidades:

Se realizaron estudios para determinar la dilución de uso efectiva de la combinación de iones de plata-mentol ensayada contra el organismo(s) de ensayo usando un método de dilución en tubo. Se hicieron diluciones en serie de la muestra ensayada en medios de crecimiento bacteriano. Los organismos de ensayo se añadieron a las diluciones del producto y se incubaron para su crecimiento. Las diluciones de la muestra ensayada que demostraron ausencia de crecimiento visible del organismo de ensayo se sembraron en placas para confirmar la letalidad del producto. Este procedimiento es un ensayo de susceptibilidad estándar para los antimicrobianos e incorpora la metodología de la Sociedad Americana de Microbiología (ASM). La neutralización se confirmó en ≥ 70 %.

30

Muestra ensayada:

La muestra ensayada utilizada fue 250 ml de una solución madre que contiene nitrato de plata 0,1 mg por 1 ml de solución tamponada. Cada muestra ensayada contenía los siguientes componentes:

35

Glicerol: 10 % v/v
Mentol: 0,05 % p/v
TWEEN 20: 0,5 % v/v
AgNO₃: 0,01 % p/v
Tris: 50 mM

40

Organismos de ensayo:

En este estudio se utilizaron las siguientes cepas microbianas:

45

E. coli ATCC n.º 8739; *Staphylococcus epidermidis* ATCC n.º 12228; *Klebsiella pneumoniae* ATCC n.º 4352 y *Staphylococcus aureus* ATCC n.º 6538

Protocolo de estudio:

Criterios de aceptación: Todos los controles positivos deben demostrar el crecimiento del organismo objetivo. Todos los medios y los controles negativos no deben mostrar ningún crecimiento del organismo objetivo.

Preparación del cultivo: Se inocularon tubos con caldo digerido de caseína y soja (SCDB) con cultivos de reserva de bacterias y se incubaron a 37 ± 2 °C durante 18-48 horas. Cuando era necesario, las concentraciones de cultivo se ajustaron mediante dilución en nitrato de sodio 0,9 % (NaNO_3) a aproximadamente 10^8 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml usando la turbidez visual. En el día del ensayo, se realizó un recuento de placa estándar en la suspensión a través de la dilución en NaNO_3 0,9 % y se sembró por triplicado en agar neutralizante (NUAG) para determinar el título de partida.

Procedimiento de ensayo de la CIM: La muestra ensayada descrita anteriormente en la presente memoria se diluyó en serie dos veces en agua purificada estéril (PURW). A continuación, se añadieron 5 ml de cada dilución a 5 ml de medio 2X. Las diluciones de ensayo finales variaron de 1:2 a 1:4096.

Dos tubos de control positivo, por organismo, se prepararon mezclando PURW 5 ml con 5 ml de medio 2X. Dos tubos de control negativo, por muestra, se prepararon mediante la mezcla de 5 ml de la dilución de la muestra más baja con 5 ml de medio 2X. Dos tubos de control de los medios se prepararon mezclando 5 ml de PURW con 5 ml de medio 2X. No se añadió cultivo de ensayo ni a los tubos de control negativo ni a los tubos de control de los medios.

Todos los tubos de dilución de la muestra de ensayo y de control positivo se inocularon con 0,05 ml del organismo de ensayo. Todos los tubos se incubaron a 37 ± 2 °C durante 16-20 horas. Basándose en el crecimiento, cada dilución en tubo se puntuó como positivo (+) o negativo (0).

Procedimiento del ensayo de la CBM: Las diluciones que no demuestran crecimiento fueran ensayadas para determinar la CBM. De cada tubo que no mostraba crecimiento se extrajo una parte alícuota de 0,1 ml. Cada dilución se sembró por triplicado en NUAG. Para un control negativo, se sembraron medios 2X estériles en NUAG. Los controles positivos se realizaron en placas ≤ 100 UFC de los organismos de ensayo en NUAG. Las placas de ensayo se incubaron a 37 ± 2 °C durante 2-4 días.

Verificación de la neutralización:

La dilución más baja de la muestra ensayada que inhibía el crecimiento del organismo de ensayo (CIM) fue ensayada para determinar la recuperación de la neutralización del organismo de ensayo en medios medios 2X. Se sembraron alícuotas de 0,1 ml de la dilución de la muestra ensayada por triplicado en NUAG. Se prepararon tres placas adicionales para cada organismo como control título. Las placas se sembraron con ≤ 100 UFC del organismo de ensayo. Las placas se incubaron a 37 ± 2 °C durante 2-4 días. Los recuentos obtenidos a partir del control de título se compararon con los de las muestras de ensayo.

Resultados:

Los resultados de la CIM y de la CBM se presentan en la Tabla 3.

La Tabla 4 presenta los resultados de neutralización.

Los ensayos cumplían con los criterios de aceptación establecidos anteriormente.

Tabla 3			
Organismo de ensayo	CIM	Título	CBM
<i>Escherichia coli</i> ATCC n.º 8739	1:8	$1,7 \times 10^8$ UFC/ml	1:4
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC n.º 12228	1:8	$5,7 \times 10^7$ UFC/ml	ND
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC n.º 4352	1:8	$1,3 \times 10^8$ UFC/ml	1:4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC n.º 6538	1:4	$1,4 \times 10^8$ UFC/ml	ND

Tabla 4		
Dilución de la muestra	Identificación del organismo	Porcentaje de recuperación de neutralización
1:2	<i>Escherichia coli</i> ATCC n.º 8739	83
1:2	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC n.º 12228	117
1:2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC n.º 4352	117
1:2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC n.º 6538	100

Estos resultados proporcionan un apoyo adicional de la versátil actividad antimicrobiana eficaz de las composiciones descritas en la presente memoria.

EJEMPLO 4

Determinación del límite microbiano según la USP

- 5 Se llevaron a cabo estudios con el fin de determinar la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp.* y otros organismos relacionados que pueden ser objetables o considerados patógenos en una muestra no estéril. La presencia de estos organismos indica un entorno que permite el crecimiento de bacterias patógenas similares.

10 Protocolo de estudio:

- Criterios de aceptación:* Los resultados del recuento en placa en bruto deben estar dentro de 30-300 unidades formadoras de colonias (UFC) por placa o deben darse como una estimación. *Aspergillus niger* y otros organismos similares se pueden leer con precisión con solo 8-80 UFC por placa. Si no se observan colonias, los resultados se informan como menos de la dilución de la muestra. El recuento de placa es válido cuando los controles negativos están dentro de los parámetros establecidos en el procedimiento actual. Los controles positivos para la calificación deben demostrar el crecimiento característico. Los controles negativos para la detección selectiva no deben demostrar el crecimiento del organismo indicador.

- 20 *Preparación de la muestra:* La muestra de ensayo se preparó combinando 10 ml de la solución madre de la muestra como se describe en el Ejemplo 3 anterior de la presente memoria con 90 ml de tampón Tris 50 mM pH 7,45. A continuación se añadieron alícuotas de 10 ml de esta solución a 90 ml de medio de digerido de caseína-lecitina de soja-polisorbato 20 líquido (FCDM) y caldo líquido caseína digerir-lecitina de soja-polisorbato y caldo de lactosa Acumedia (ALBR).

- 25 *Recuentos de las placas:* Utilizando la técnica de vertido en placa, se sembró 1 ml de la muestra en agar de digerido de soja y caseína (CSDA) por triplicado para los recuentos bacterianos. El mismo procedimiento se realizó usando agar de dextrosa de patata (PDXA) por triplicado para los recuentos de hongos. Las placas de SCDA se incubaron durante 48-72 horas a 30-35 °C mientras que las placas de PDXA se incubaron durante 5-7 días a 20-25 °C.

- 30 *Enriquecimiento de la muestra:* Las muestras se diluyeron en FCDM para la detección de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y ALBR para la detección de *Salmonella* y *Escherichia coli*.

- Los caldos de enriquecimiento se dejaron incubar durante 24-48 horas a 30-35 °C.

- 35 *Detección microbiana:* Después de la incubación de enriquecimiento, los caldos fueron transferidos o rayados con los medios apropiados para la incubación de la siguiente manera:

- 40 *Salmonella:* caldo de selenita-cistina y caldo de tetratiónato - 12-24 horas a 30-35 °C; verde brillante, sulfito de bismuto y agar XLD - 24-48 horas a 30-35 °C;
P. aeruginosa: agar de cetrimida - 24-48 horas a 30-35 °C;
S. aureus: agar de manitol salado - 24-48 horas a 30-35 °C;
E. coli: agar MacConkey - 24-48 horas a 30-35 °C.

- 45 Cualquier colonia sospechosa se verificó mediante pruebas bioquímicas.

Calificación:

- Las pruebas de calificación se realizaron en la prueba inicial de este tipo de muestra de la siguiente manera:

- 50 Los cultivos de caldos de veinticuatro de los cuatro organismos de ensayo se cultivaron a 30 - 35 °C y se diluyeron 1:1000. La alícuota del organismo utilizado para la inoculación fue ≤ 1 % de la preparación de la muestra. El inóculo se añadió en la hora siguiente a la dilución de la muestra en los caldos. Se hizo un seguimiento del procedimiento de detección. Los cuatro organismos ensayados deben recuperarse, lo que demuestra la neutralización de la muestra.

Resultados:

- 60 La solución probada pasó la calificación a la dilución 1:10. Los valores observados para el recuento total de microbios aerobios y para el recuento de mohos y levaduras combinado fueron inferiores a 10, lo que indica "sin detección".

Por lo tanto, el análisis de rutina se puede realizar a la dilución 1:10 de la muestra.

- 65 En la detección de patógenos, los resultados mostraron que todos los organismos probados estaban ausentes de los recuentos totales de aerobios y hongos. Los resultados del recuento de placa no están calificados para la

recuperación bacteriana o fúngica.

Las pruebas cumplía los criterios de aceptación.

5 EJEMPLO 5

Ensayo de susceptibilidad antimicrobiana

Los estudios se llevaron a cabo para la selección de una muestra de ensayo que contiene iones de plata y mentol para determinar la actividad antimicrobiana. Los organismos de exposición fueron *Staphylococcus aureus* ATCC n.º 6538, y *Escherichia coli* ATCC n.º 8739. El procedimiento de ensayo fue una adaptación del método de difusión en disco (Kirby-Bauer) para las pruebas de sensibilidad a los antibióticos.

Protocolo de estudio:

Preparación del cultivo: se inoculó caldo de Mueller-Hinton con *S. aureus* y *E. coli* de cultivos madre y se incubaron durante 18-24 horas a 30-35 °C. Los organismos de ensayo fueron normalizados utilizando solución salina fisiológica para conseguir una densidad celular equivalente a un estándar McFarland de 0,5. El inóculo se utilizó en los 15 minutos siguientes a la normalización.

Muestra analizada:

La muestra analizada utilizada fue tomada de una solución madre de 250 ml que contiene 0,1 mg de nitrato de plata por 1 ml de solución tamponada. Cada muestra analizada contenía los siguientes componentes:

Glicerol: 10 % v/v
Mentol: 0,05 % p/v
TWEEN 20: 0,5 % v/v
AgNO₃: 0,01 % p/v
Tris: 50 mM

Rendimiento del ensayo: Se sumergió una torunda de algodón estéril en el inóculo estandarizado, se giró varias veces y se presionó firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel de líquido para eliminar el exceso de inóculo de la torunda. La torunda se extendió por rayado tres veces sobre toda la superficie de la placa de agar Mueller-Hinton, rotando la placa aproximadamente 60 ° cada vez y después se hizo un barrido final por el borde del agar. La tapa se dejó al aire durante no más de 15 minutos para permitir la absorción de cualquier exceso de humedad de la superficie. Se colocaron discos estériles en las placas de agar usando un par de pinzas estériles. Se colocó un disco en el centro de cada placa, presionando firmemente para que la muestra se mantuviese en su sitio y en contacto con la superficie de agar uniformemente. Cada disco se inoculó con aproximadamente 0,1 ml de la muestra ensayada. Para los controles negativos, cada disco se inoculó con agua purificada estéril.

Las placas se incubaron a 30-35 °C durante aproximadamente 24 horas. Las muestras se transfirieron después a las placas recién preparadas y se incubaron durante aproximadamente 24 horas. Este procedimiento se repitió hasta que las placas no mostraron zona de inhibición. Los diámetros de las zonas de inhibición (si existe) se midieron usando calibradores calibrados sensibles a 0,01 mm. Se midió la zona completa de la inhibición, incluyendo el diámetro de la muestra.

Resultados:

Los resultados se presentan en la Tabla 5, y demuestran la susceptibilidad de las bacterias a la muestra ensayada.

Tabla 5

Organismo de ensayo		Diámetro de la zona que incluye la muestra (mm)	Diámetro de la zona que incluye la muestra (mm)
		24 horas	48 horas
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC n.º 6538	1	16,24	Ninguna zona
	2	16,34	Ninguna zona
	3	15,33	Ninguna zona
<i>Escherichia coli</i> ATCC n.º 8739	1	14,14	Ninguna zona
	2	16,28	Ninguna zona
	3	12,53	Ninguna zona

EJEMPLO 6

Estudio comparativo de las actividades fungicidas/fungistáticas de una solución que contiene iones de plata y mentol y del PRONTOSAN de B. Braun comercial

5 La actividad antifúngica de la composición descrita en la presente memoria (una muestra de prueba tal como se describe en el Ejemplo 5 de la presente memoria) se ensayó y se comparó con la de los productos disponibles comercialmente PRONTOSAN® (de *B. Braun*), MICROCYN® (de *Occulus*) y ANASEPT® (de *Anacapa*).

10 *Detección in vitro y la prueba comparativa de la actividad fungicida:*

Se inoculó agar SDB (100 µl) en un pocillo de una placa ELISA con la cepa ensayada y se sometió a crecimiento inicial por incubación durante 24 horas, a 30 °C.

15 Se aplicaron una vez 100 µl de una solución acuosa de la sustancia ensayada (la solución que contiene iones de plata y mentol, como se describe en la presente memoria o una solución de PRONTOSAN®, MICROCYN® o ANASEPT® o de una solución salina 0,9 % (como control), las placas se incubaron durante 30 minutos a 30 °C, las soluciones se desecharon y se añadieron a continuación 100 µl de medio de crecimiento SDB y las placas se incubaron durante 30 minutos a 30 °C y después se desechó el medio. Las placas se incubaron a continuación a 30 °C durante 24 días y se examinaron y fotografiaron diariamente.

20 La Figura 1 presenta una imagen que ilustra en general el aspecto de un cultivo de hongos después de 24 días de incubación después de la exposición durante 30 minutos a una solución ensayada y posterior lavado: o bien no hay crecimiento (efecto fungicida, indicado como "F"), crecimiento mínimo (efecto inhibidor, indicado como "IN") o crecimiento completo (sin efecto, indicado como "NE").

25 Las Figuras 2-4 presentan imágenes que ilustran el aspecto del cultivo de hongos expuesto, después de 3, 8, 11 y 16 días de incubación después de la exposición durante 30 minutos a cada una de las soluciones ensayadas y posterior lavado. Las soluciones ensayadas incluían: una composición que contiene iones de plata y mentol, como se describe en el Ejemplo 5 anterior de la presente memoria (indicado como "S"), PRONTOSAN® (indicado como "P"), exposiciones posteriores alternantes a una composición que contiene iones de plata y mentol (S) y PRONTOSAN® (P), (indicado como "S + P" y "P + S"), MICROCYN® (indicado como "M") y ANACEPT® (indicado como "A") y sus diluciones (1:2; 1:4; 1:8). Las cepas fúngicas ensayadas fueron una cepa clínica de *Trichophyton rubrum* (Figura 2); *Trichophyton rubrum* cepa comercial NCPF 118 (Figura 3) y una cepa clínica de *Microsporum canis* (Figura 4).

30 Los datos presentados en las Figuras 2-4 demuestran claramente el efecto fungicida de un solo tratamiento con la composición que contiene iones de plata y mentol, de acuerdo con realizaciones de la invención. La composición que contiene iones de plata-mentol presentaba una actividad similar a la de PRONTOSAN®; era activa también en las diluciones 1:2 -1:4 y era superior a los agentes que contienen hipoclorito MICROCYN® y ANACEPT®. Además, se demostró claramente que los tratamientos posteriores de la composición de iones de plata-mentol y PRONTOSAN® proporcionan una actividad antifúngica sustancialmente mejorada, con una clara superioridad de la composición de iones de plata-mentol en primer lugar, seguido de PRONTOSAN®, cuya combinación demostró una elevada eficacia antifúngica significativa incluso a diluciones 1:8 en la cepa clínica de *Trichophyton rubrum* (véase, la Figura 2).

40 Aunque la invención se ha descrito junto con realizaciones específicas de la misma, es evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones serán evidentes para los expertos en la técnica.

REIVINDICACIONES

1. Una composición antiséptica que comprende, como principios activos, mentol e iones de plata y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que una concentración de dichos iones de plata en la composición y una
5 concentración de mentol en la composición se seleccionan del grupo que consiste en:

una concentración de dichos iones de plata es 0,29 mM y una concentración de dicho mentol es 6,4 mM;
una concentración de dichos iones de plata es 0,29 mM y una concentración de dicho mentol es 3,2 mM;
una concentración de dichos iones de plata es 0,44 mM y una concentración de dicho mentol es 3,2 mM;
10 una concentración de dichos iones de plata es 0,6 mM y una concentración de dicho mentol es 3,2 mM; y
una concentración de dichos iones de plata es 0,6 mM y una concentración de dicho mentol es 0,64 mM.
2. La composición antiséptica de la reivindicación 1, en la que dicha concentración de dichos iones de plata es 0,6
15 mM y dicha concentración de dicho mentol es 3,2 mM.
3. La composición antiséptica de la reivindicación 1 o 2, que comprende además un agente hiperosmótico.
4. La composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende además un agente
20 solubilizante.
5. La composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicho vehículo farmacéuticamente aceptable es una solución acuosa.
6. La composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que se formula como una forma
25 farmacéutica tópica.
7. Un kit antiséptico que comprende un material de envasado y la composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 que se envasa en dicho material de envasado.
- 30 8. El kit antiséptico de la reivindicación 7, que se identifica impreso, en o sobre dicho material de envasado, para su uso en el tratamiento de una herida.
9. La composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en la desinfección de una
35 superficie corporal de un sujeto en necesidad del mismo, siendo dicha desinfección mediante la aplicación tópica de la composición antiséptica sobre dicha superficie corporal.
10. La composición antiséptica de la reivindicación 9, para su uso en el tratamiento de una infección en dicha superficie corporal.
- 40 11. La composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en el tratamiento de una herida en un sujeto en necesidad del mismo.
12. Un proceso de preparación de la composición antiséptica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, comprendiendo el proceso mezclar dicha fuente de iones de plata, dicho mentol y dicho vehículo farmacéuticamente
45 aceptable, obteniendo de este modo la composición antiséptica.

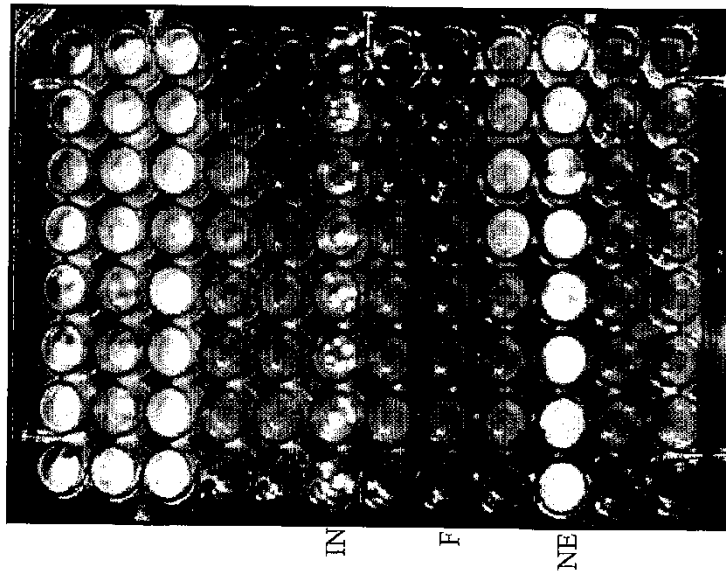


FIG. 1

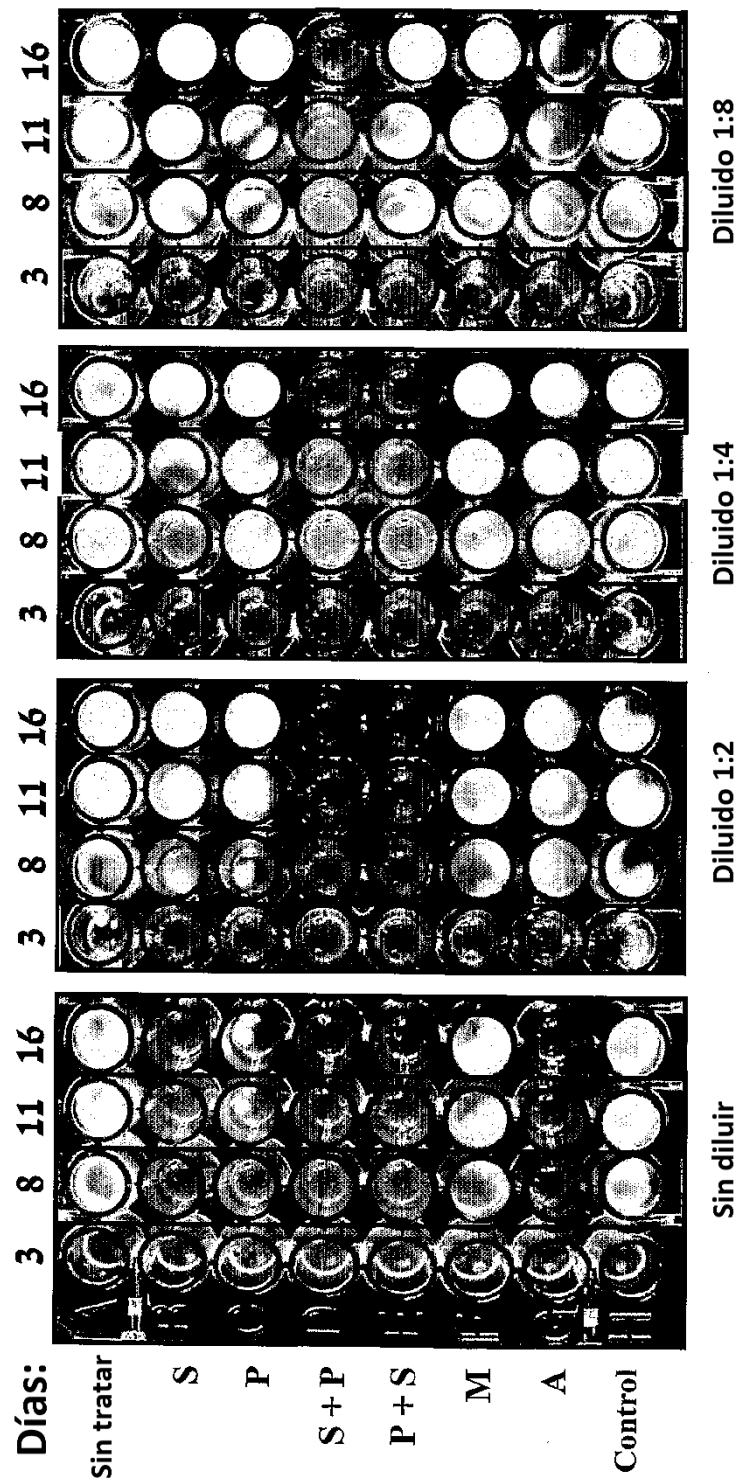


FIG. 2

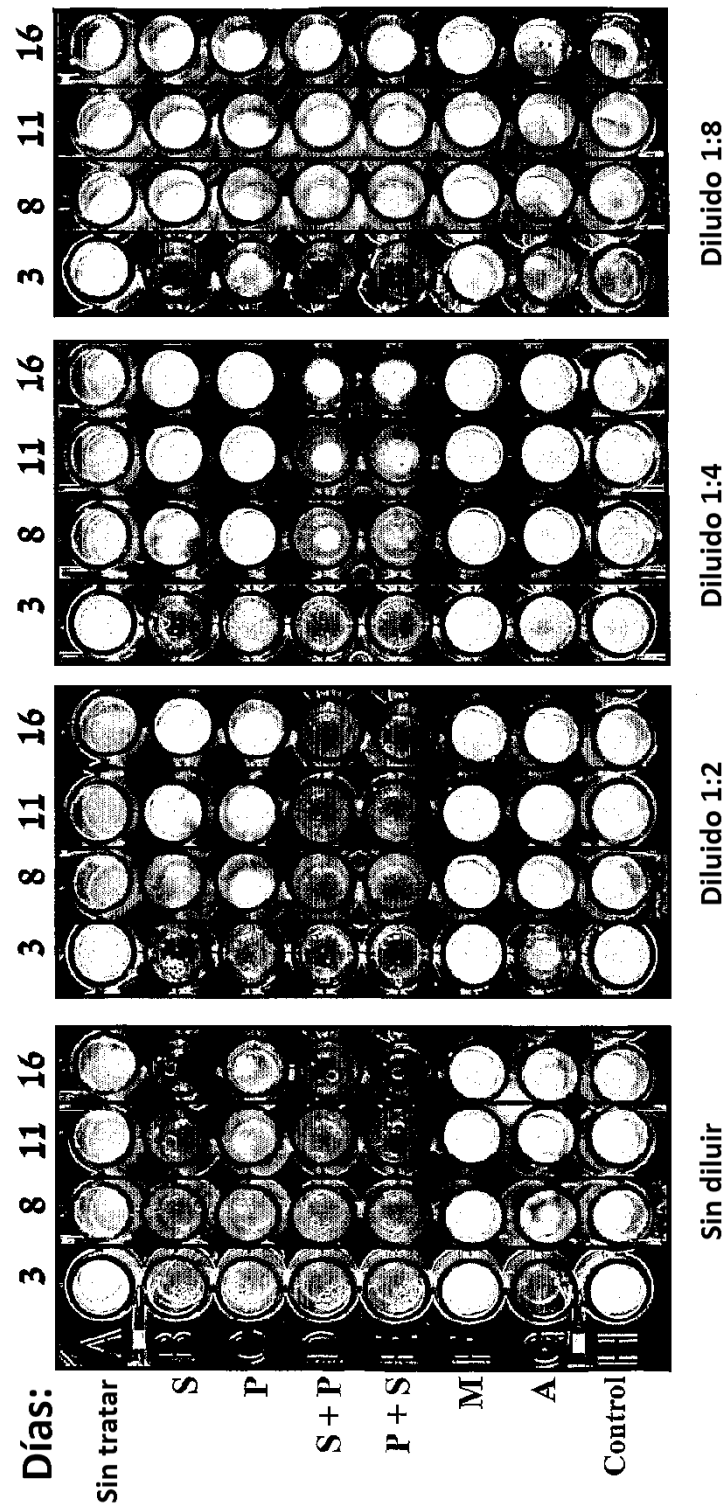


FIG. 3

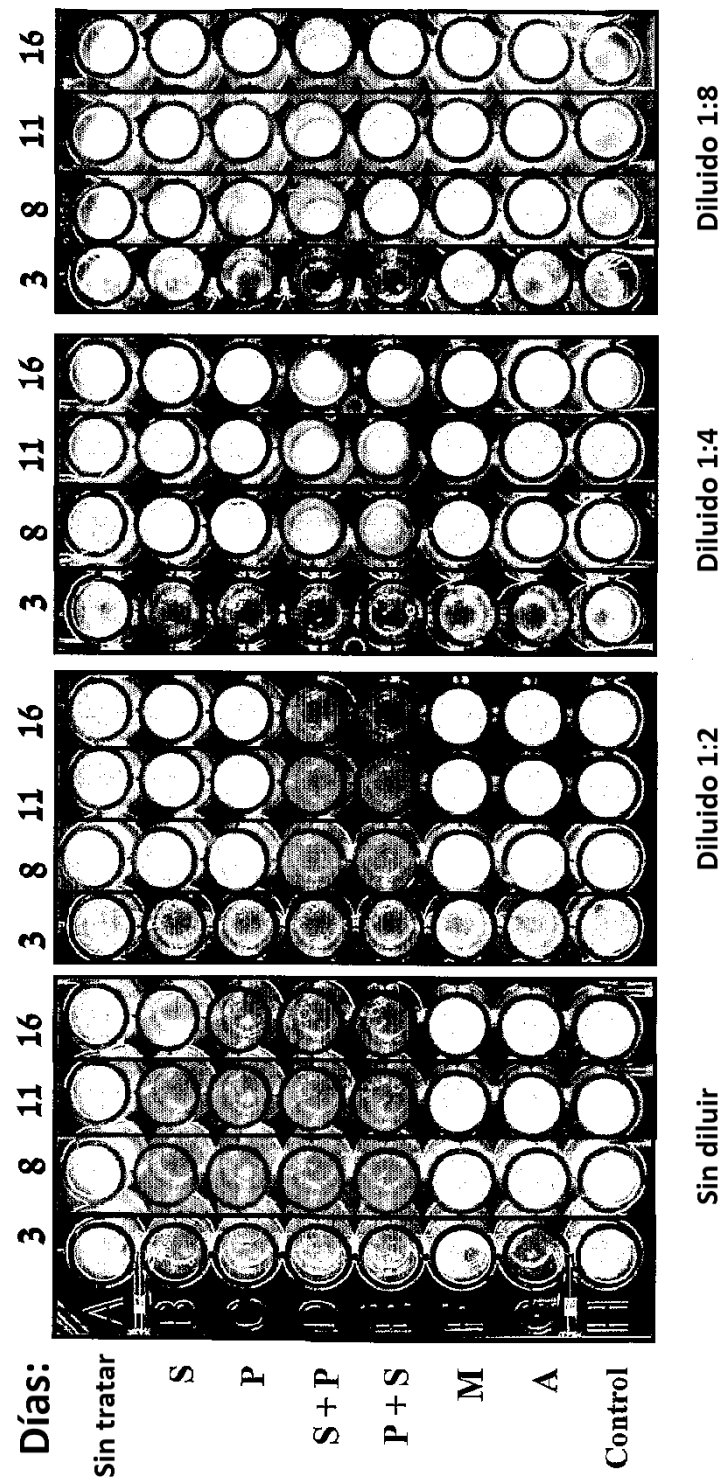


FIG. 4