(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 620 454**

(51) Int. Cl.:

A61L 2/16	(2006.01)
A01N 63/02	(2006.01)
A01N 37/44	(2006.01)
A01N 43/647	(2006.01)
A01N 43/66	(2006.01)
A01P 1/00	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2008** **PCT/US2008/080255**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **30.11.2016** **WO2009052344**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2008** **E 08839530 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017** **EP 2219687**

(54) Título: **Composición desactivadora de priones y métodos para su uso**

(30) Prioridad:

17.10.2007 US 873465

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.06.2017

(73) Titular/es:

AMERICAN STERILIZER COMPANY (100.0%)
5960 HEISLEY ROAD
MENTOR, OH 44060-1834, US

(72) Inventor/es:

KAISER, NANCY-HOPE ELIZABETH;
TIREY, JASON F. y
MCDONNELL, GERALD E.

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 620 454 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición desactivadora de priones y métodos para su uso

Campo técnico

Esta invención se refiere a métodos de limpieza y esterilización de una superficie y/o artículo infectado por priones, respectivamente.

Antecedentes

El término "prion" se usa para describir proteínas de carácter infeccioso que provocan enfermedades cerebrales relativamente similares en seres humanos y/o en animales, de carácter invariablemente fatal. Estas enfermedades se designan generalmente como encefalopatías espongiformes transmisibles (TSE, por sus siglas en inglés). Las TSE incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) y su variante CJD (vCJD) en el ser humano, la encefalopatía espongiforme bovina (BSE) en el ganado (también conocida como “enfermedad de las vacas locas"), tembladera en ovejas, y enfermedad debilitante crónica en alces. Todas estas enfermedades atacan los órganos neurológicos del ser humano y/o animales que son susceptibles a las enfermedades. Se caracterizan por tiempos de incubación inicialmente prolongados, seguidos de un breve periodo de síntomas neurológicos que incluyen demencia y pérdida de coordinación y, finalmente, la muerte del sujeto.

Se cree que el agente infeccioso responsable de estas enfermedades es una proteína simple, sin ácidos nucleicos asociados. Se ha propuesto que el mecanismo patógeno de estas enfermedades priónicas implica una proteína inicialmente normal, codificada por el huésped. En realidad, un prion es una proteína normal codificada por el huésped (PrP) que existe en un primer estado conformacional en un huésped no infectado. La proteína experimenta un cambio conformacional a un segundo estado conformacional anormal, que tiene la capacidad de auto-propagación. Por ejemplo, una proteína normal codificada por el huésped puede existir en un primer estado conformacional PrP^{c} (celular) en un huésped no infectado y, a continuación, cambiar a un segundo estado conformacional tal como PrP^{Sc} (en la enfermedad tembladera) en huéspedes infectados. A pesar de ser químicamente similares entre sí, la forma anormal del prion difiere de la proteína normal codificada por el huésped en relación con una estructura de orden superior (es decir, estructura secundaria, terciaria y/o cuaternaria) y a la solubilidad. En el caso de la tembladera, por ejemplo, una diferencia entre la forma “tembladera” (PrP^{Sc}) y la forma celular radica en la estructura secundaria de las hélices a en comparación con las láminas plegadas β. PrP^{Sc} muestra un contenido más alto en láminas plegadas β comparado con la estructura proteínica normal del prion celular.

La causa o razón exacta del cambio desde el estado conformacional normal al estado conformacional anormal (infectado) de momento es desconocida. La forma anormal de la proteína no se degrada de manera eficaz en el organismo, y su acumulación en determinados tejidos (en particular, en el tejido nervioso) provoca finalmente lesiones tisulares tales como lisis celular. Una vez que se han producido lesiones significativas del tejido nervioso, se observan signos clínicos.

Por lo tanto, las enfermedades priónicas se pueden clasificar como una enfermedad de agregación de proteínas, que incluyen también varias otras enfermedades fatales como la enfermedad de Alzheimer y amiloidosis. En el caso de la CJD, la enfermedad priónica de mayor prevalencia en el ser humano, se considera que aproximadamente 85 % de los casos surgen de modo esporádico, se estima que aproximadamente 10 % son hereditarios y aproximadamente 5 % aparece de manera iatrogénica. Las enfermedades asociadas pueden incluir también la precipitación de hemozoína durante la infección con el parásito de la malaria.

Aunque no se consideran altamente contagiosas, las enfermedades priónicas se pueden transmitir por determinados tejidos de alto riesgo que incluyen el cerebro, la médula espinal, el líquido cefalorraquídeo, y el ojo. Se ha informado de la transmisión iatrogénica durante diversos procedimientos que incluyen los injertos de duramadre, trasplantes de córnea, homoinjertos de pericardio, y a través de la contaminación de gonadotrofina humana y hormona humana del crecimiento. Se han comunicado problemas con la transmisión por la sangre.

El documento WO 2006/015189 A2 se refiere a un método para inactivar un agente de encefalopatía espongiforme transmisible al poner en contacto este agente con una subtilisina proteasa por debajo de 40 ºC. Sigurdsson y otros. (The Journal of Biological Chemistry, Vol. 287, núm. 47, 2003, páginas 46199-46202) revelan que los niveles de cobre pueden influir en el estado conformacional de la proteína priónica, influyendo así en su infectividad y este efecto puede atenuarse por medio de una terapia con agente quelante.

Resumen

Un problema existente con las enfermedades priónicas es que pueden ser transmitidas a través de dispositivos médicos, incluidos los instrumentos de neurocirugía, electrodos de profundidad, y otros elementos usados en procedimientos quirúrgicos muy próximos al sistema nervioso central. Los procedimientos considerados anteriormente de “bajo riesgo", tales como amigdalectomía y procedimientos dentales, pueden representar riesgos inaceptables de

infección sobre todo si aumenta la incidencia de las enfermedades relacionadas con priones.

Después de un procedimiento quirúrgico en un paciente infectado con priones (que puede ser una infección conocida o, como ocurre en la mayoría de los casos, desconocida), en los instrumentos quirúrgicos, especialmente instrumentos de neurocirugía y de oftalmología, pueden quedar residuos que contienen priones. Durante el prolongado periodo de incubación, resulta extremadamente difícil determinar si un candidato a la cirugía es portador de priones.

Los diferentes niveles de descontaminación microbiana pueden incluir higienización, desinfección y esterilización. La higienización indica la eliminación de la suciedad o de gérmenes mediante la limpieza. Desinfección hace referencia a las operaciones de limpieza para destruir microorganismos perjudiciales. La esterilización, máximo nivel de control de la contaminación biológica, comprende la destrucción de todos los microorganismos vivos.

Diversos materiales biológicos que no viven o se reproducen en un sentido convencional, tales como los priones, son, sin embargo, capaces de multiplicarse y/o transformarse en entidades perjudiciales. Tal como se usa en este documento, el término “desactivación” comprende la destrucción de estos materiales biológicos perjudiciales, tales como los priones, y/o de su capacidad para replicar o experimentar cambios conformacionales en especies perjudiciales.

Los priones son notoriamente muy tenaces y exhiben una resistencia única frente a los métodos convencionales de descontaminación (incluidas la limpieza, la desinfección y la esterilización). A diferencia de los microorganismos, los priones carecen de ADN o ARN conocidos que se puedan destruir o alterar. Los priones, debido a su naturaleza hidrófoba, tienden a formar agregados insolubles. Bajo muchas condiciones que conducen a una esterilización eficaz de microorganismos, los priones forman agregados más compactos que los pueden proteger tanto a ellos como a los priones subyacentes del proceso de esterilización.

Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (1999) para la desactivación de los priones abogan por sumergir los instrumentos quirúrgicos en hidróxido o hipoclorito sódico concentrado durante dos horas, seguido de un tratamiento en autoclave durante una hora. Estos tratamientos agresivos a menudo son incompatibles con dispositivos médicos, en especial endoscopios flexibles y otros dispositivos con partes de plástico, bronce o aluminio. Muchos dispositivos resultan afectados por la exposición a temperaturas elevadas. Además, estos procedimientos se recomiendan sólo en casos en que la enfermedad priónica sea conocida o que existan indicios muy fiables de su existencia. Los tratamientos químicos que emplean soluciones altamente alcalinas, tales como las que exhiben un pH mayor que aproximadamente 12, son perjudiciales para los materiales o las superficies en general de los dispositivos médicos. Bajo las condiciones experimentales descritas, se ha informado de que el glutaraldehído, formaldehido, óxido de etileno, peróxido de hidrógeno líquido simple, la mayor parte de los compuestos fenólicos, alcoholes y procesos tales como calor seco, ebullición, congelación, tratamiento con UV, ionización y radiación con microondas son ineficaces.

Existe la necesidad de productos y métodos para tratar los materiales contaminados con proteínas infecciosas, incluidos los materiales infectados con priones. Además, existe la necesidad de productos y métodos que sean efectivos contra los priones, pero compatibles con los materiales (por ejemplo, superficies o artículos) sometidos a tratamiento. De esta forma, en un aspecto, existe la necesidad de productos y métodos que sean efectivos contra los priones a un pH relativamente bajo, es decir, a un pH de a aproximadamente 12. La presente invención satisface estas necesidades al proponer para el tratamiento del material infectado el uso de la composición desactivadora de priones según la invención.

La descripción se refiere a una composición desactivadora de priones que puede comprender al menos un agente desnaturalizante de priones y al menos una enzima desactivadora de proteínas. La composición puede comprender, adicionalmente, uno o múltiples agentes desorganizadores de membrana, tensioactivos, codisolventes, agentes de acoplamiento, inhibidores de la corrosión, agentes potenciadores de actividad, estabilizantes de enzimas, agentes oxidantes, agentes reductores, ácidos, antiespumantes, o una mezcla de dos o más de ellos. Los citados ingredientes pueden estar dispersos o disueltos en un disolvente adecuado tal como agua.

La invención se refiere a un método para limpiar una superficie y/o artículo infectado con priones, el método comprende poner en contacto la superficie y/o el artículo con una composición desactivadora de priones que comprende al menos un agente desnaturalizante de priones que es al menos un agente complejante de cobre cobre (II) seleccionado del grupo que consiste en ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), benzotriazol, toliltriazol, acido trisódico metilglicinacético (Trilon M), ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) (Irgacor L190), etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il]metil]imino]bis-(Irgamet 42), y bicarbonato/carbonato de didecildimetilammonio (CarboShield 1000), y al menos subtilisina.

Cuando el contacto es secuencial, el agente desnaturalizante de priones o la enzima desnaturalizante de priones se puede poner en contacto inicialmente con el material contaminado. Se pueden usar composiciones o soluciones separadas que los contengan.

La invención se refiere a un método para esterilizar una superficie y/o artículo infectado contaminado con priones, en donde el método comprende:
a) poner en contacto la superficie y/o artículo con una composición desactivadora de priones, que comprende al menos

un agente desnaturalizante de priones que es al menos un agente complejante de cobre (II) seleccionado del grupo que consiste en ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), benzotriazol, toliltriazol, acido trisódico metilglicinacético (Trilon M), ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) (Irgacor L190), etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il]metil]imino]bis-(Irgamet 42), y bicarbonato/carbonato de didecildimetilamonio (CarboShield 1000), y al menos subtilisina; y

b) exponer la superficie o artículo a un medio de esterilización.

El contacto con el agente desnaturalizante de priones y con la enzima desactivadora de priones puede tener lugar de forma simultánea o secuencial. Cuando el contacto sea secuencial, el material contaminado se puede poner en contacto inicialmente con el agente desnaturalizante de priones o con la enzima desactivadora de priones. Se pueden usar composiciones o soluciones separadas que contengan estos elementos.

Breve Descripción de los Dibujos

Las Figuras 1-5 muestran los resultados de los ensayos de transferencia de western para los análisis descritos en el Ejemplo 5.
La Figura 6 muestra los resultados de los ensayos de transferencia de western para los análisis descritos en el Ejemplo 6.
La Figura 7 muestra los resultados de los ensayos de transferencia de western para los análisis descritos en el Ejemplo 7.
La Figura 8 muestra los resultados de los ensayos de transferencia de western para los análisis descritos en el Ejemplo 8.
La Figura 9 muestra los resultados de los ensayos de transferencia de western para los análisis descritos en el Ejemplo 9.
La Figura 10 muestra los resultados de los ensayos de transferencia de western para los análisis descritos en el Ejemplo 10.

Descripción Detallada

Se pueden combinar todos los límites de intervalos y relaciones descritos en la descripción y en las reivindicaciones. Se debe entender que, salvo que se indique específicamente lo contrario, las referencias a “un”, “una” y/o “el” o “la” pueden incluir uno o más de un elemento, y que la referencia a un artículo en singular puede incluir también el artículo en plural.

El término "composición desactivadora de priones" se refiere a una composición que es adecuada para destruir priones y/o reducir la capacidad de los priones para replicarse o experimentar cambios conformacionales a especies perjudiciales.

El término "desnaturalizar," o sus variaciones, abarca cualquier cambio en una estructura de orden superior de una proteína que incluye, por ejemplo, cualquier cambio a una estructura secundaria, terciaria y/o cuaternaria de una proteína. Por lo general, el término “desnaturalizar" abarca cualquier cambio no covalente de la estructura de una proteína. Es decir, “desnaturalizar” comprende cualquier cambio de la estructura de una proteína, excepto la escisión de los enlaces peptídicos en la estructura primaria de una proteína. El término “desnaturalizar” sí comprende los cambios covalentes que puedan estar asociados con estructuras de orden superior de una proteína tales como, por ejemplo, la reticulación interna, por ejemplo, la reticulación interna formada por enlaces disulfuro, y similares. El grado de desnaturalización no está limitado de manera particular y no necesariamente debe ser un cambio estructural completo de cualquier estructura cuaternaria a una estructura terciaria, de una estructura terciaria a una estructura secundaria, de una primera estructura secundaria a una segunda estructura secundaria, etc.

El término “desnaturalizante de priones" o "agente desnaturalizante de priones" incluye cualquier material capaz de desnaturalizar un prion, por ejemplo, haciendo que un prion experimente un cambio de conformación estructural que incluye, por ejemplo, provocar cambios de las estructuras secundaria, terciaria o cuaternaria de un prion. Las expresiones “desnaturalizante de priones" y/o "agente desnaturalizante de priones" comprenden materiales que interaccionan con (1) un prion que existe en estado conformacional anormal o infectado, obligando al prion a experimentar un cambio de conformación estructural, y/o (2) un prion que existe en estado conformacional normal (no infectado) (por ejemplo, en estado de proteína normal codificada por el huésped) haciendo que el prion experimente un cambio de la conformación estructural. El grado en que un prion experimenta un cambio estructural en presencia de un “desnaturalizante de priones" no se limita a cambios completos hasta una conformación estructural. Por ejemplo, un desnaturalizante de priones no necesariamente hace que un prion experimente un cambio estructural completo, como el que se da desde una estructura cuaternaria cualquiera a una estructura terciaria, desde una estructura terciaria a una estructura secundaria, o desde una estructura secundaria a una estructura primaria desplegada, etc. Más bien, los cambios de la conformación estructural de un prion incluyen cualquier modificación o alteración de una conformación estructural de un prion. Por ejemplo, un agente desnaturalizante de priones puede determinar que un prion experimente un cambio conformacional hasta un grado suficiente, de manera que el prion exhiba cierta susceptibilidad a una desactivación tal como, por ejemplo, escisión enzimática por medio de una enzima proteolítica. Adicionalmente, tal como se usa en este documento, un “desnaturalizante de priones" o "agente desnaturalizante de priones" comprende un material que es capaz de prevenir que un prion en su forma o conformación normal de proteína codificada por el

huésped adopte una conformación estructural (incluidas las estructuras secundaria, terciaria o cuaternaria) que se asocian con un estado anormal (infectado), en el que la proteína sería relativamente resistente a la escisión o desactivación enzimática.

El término “enzima desactivadora de priones" se refiere a cualquier enzima capaz de desactivar un prion. En una modalidad, una enzima desactivadora de priones incluye enzimas capaces de desactivar un prion por medio de al menos un cambio de enlace peptídico, cambio de enlace disulfuro, reticulación, o combinaciones de dos o más de estas acciones.

El término “agente complejante” se refiere a un compuesto que contiene uno o múltiples grupos capaces de unirse a un átomo central a través de al menos un átomo de coordinación. El agente complejante puede incluir ligandos monodentados así como ligandos multidentados. El agente complejante puede ser un agente quelante.

El término “esterilización” se refiere a hacer que una sustancia sea incapaz de reproducirse, metabolizar y/o crecer. Aunque a menudo se considera que significa la ausencia total de organismos vivos, la expresión se puede usar en este documento para hacer referencia a una sustancia exenta de organismos vivos en un grado previamente consensuado como aceptable. A menos que se indique lo contrario, el término “esterilización” se puede utilizar en este documento también para hacer referencia a procesos menos rigurosos que la esterilización, por ejemplo, desinfección, higienización, descontaminación, limpieza, y similares. Del mismo modo, las variaciones del término “esterilización” tales como esterilizador, esterilizante, etc. se pueden usar también en este documento para hacer referencia y abarcar variantes relacionadas, asociadas con procesos menos rigurosos que la esterilización (por ejemplo, desinfectante, desinfección, etc.).

La presente invención se refiere a los métodos para limpiar o esterilizar una superficie y/o artículo contaminado con priones usando una composición desactivadora de priones. La composición desactivadora de priones comprende al menos un agente desnaturalizante de priones que es al menos un agente complejante de cobre (II) seleccionado del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), benzotriazol, toliltriazo, ácido trisódico metilglicinacético (Trilon M), ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) (Irgacor L190), etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il]metil]imino]bis- (Irgamet 42), y bicarbonato/carbonato de didecildimetilamonio (CarboShield 1000).

La relación en peso del al menos un agente desnaturalizante de priones a la al menos una enzima desnaturalizante de priones puede estar comprendida en el intervalo de aproximadamente 1:50 a aproximadamente 50:1 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 25:1 m y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1:15 a aproximadamente 15:1 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 10:1 y , en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1:7 a aproximadamente 7:1 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 5:1. La composición desactivadora de priones puede comprender, adicionalmente, uno o múltiples agentes desorganizadores de membrana, agentes potenciadores de actividad, codisolventes, tensioactivos, agentes de acoplamiento, inhibidores de corrosión, estabilizantes de enzimas, agentes oxidantes, agentes reductores, ácidos, antiespumantes, o una mezcla de dos o más de ellos. Los citados componentes pueden estar dispersos o disueltos en agua.

El agente desnaturalizante de priones puede comprender cualquier material adecuado para desnaturalizar un prion. La desnaturalización puede incluir cualquier cambio de la estructura proteica de un prion, incluidos los cambios de las estructuras cuaternaria, terciaria y/o secundaria de un prion. El agente desnaturalizante de priones puede desnaturalizar además un prión alterando la reticulación interna o externa asociada con un prión.

El agente desnaturalizante de priones puede estar presente en una composición desactivadora de priones a una concentración en el intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 60 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 15 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 5 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 3 por ciento en peso.

El agente complejante de cobre (II) se selecciona del grupo que consiste en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA); sales de EDTA; las sales de EDTA pueden incluir EDTA tetrasódico; benzotriazol, toliltriazol, ácido trisódico metilglicinacético (Trilon M from BASF); ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) (Irgacor L190 de Ciba); etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il)metil]imino]bis- (Irgamet 42 de Ciba); y bicarbonato/carbonato de didecildimetilamonio (CarboShield 1000 de Lonza Incorporated).

El agente complejante de cobre (II) puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una cantidad adecuada para fijar una cantidad efectiva de iones de cobre (II), sus sales, o mezclas de dos o más de estas, de manera que el prion sufre una desnaturalización (por ejemplo, experimenta un cambio conformacional desde un estado anormal, o se impide que adopte una conformación anormal). El agente complejante de cobre (II) puede estar presente en la

composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 50 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 50 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,2 a aproximadamente 7 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,3 a aproximadamente 5 por ciento en peso.

Sin estar atados a ninguna teoría, se cree que los priones pueden ser proteínas fijadoras de cobre, estando implicados en el transporte celular de iones de cobre. El cobre puede estimular la endocitosis de priones celulares no infectados desde la superficie celular. Además, un contenido relativamente alto de cobre puede estar asociado con los homogenatos cerebrales de proteínas priónicas, presente en forma de cobre (II). Los agentes complejantes de cobre (II) que se pueden utilizar en las composiciones según la invención pueden unirse o formar complejos con los iones de cobre (II) y provocar la desnaturalización del prion. La desnaturalización resultante de la formación de complejos de iones de cobre (II) y/o sus sales puede incluir cambios de la conformación estructural cuando el prion se encuentra en una conformación anormal (infecciosa), y/o una conformación de proteína normal, codificada por el huésped. La desnaturalización resultante de la formación de complejos de iones de cobre (II) y/o sus sales puede incluir también situaciones en las que se impide que un prion en su conformación de proteína normal, codificada por el huésped, forme complejos con los iones de cobre (II) y adopte, por lo tanto, una conformación anormal (infecciosa).

La enzima desactivadora de priones puede comprender una o múltiples enzimas proteolíticas (denominadas también proteasas o peptidasas) que son capaces de desactivar los priones. Los priones se pueden desactivar por la escisión de los enlaces peptídicos. La enzima desactivadora de priones puede comprender una proteasa específica, una proteasa inespecífica, o una mezcla de dos o más de ellas. La proteasa puede ser natural o sintética. La proteasa puede incluir bromelaína, pepsina y/o papaína. La proteasa puede incluir subtilisinas, termolisinas, proteasas bacterianas, proteasas que exhiben actividad de colagenasa, proteasas que hidrolizan la gelatina, y similares. La proteasa puede ser una serina proteasa.

La enzima desactivadora de priones puede comprender al menos una serina proteasa inespecífica, producida por un *Bacillus* genéticamente modificado, al menos una proteasa inespecífica producida por *Bacillus lichenformis,* o una mezcla de las mismas. Las enzimas proteasas pueden incluir las que se encuentran disponibles en Novozymes bajo las marcas registradas Alcalasa®, Esperasa®, Savinasa® y Ovozyme®. También se incluyen las enzimas proteasas disponibles en Genencor bajo las marcas registradas Purafect® L, Purafect® MA L, Properasa L y Multifect®. Se puede utilizar la proteasa disponible en Enzyme Solutions Pty Ltd. bajo el nombre GC 106. Se pueden usar mezclas de dos o más de las anteriores. La enzima desactivadora de priones puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 70 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 35 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 30 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 25 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 por ciento en peso.

El agente desorganizador de membrana puede comprender uno o múltiples agentes desorganizadores de la estructura lipídíca, agentes desorganizadores del soporte de glucosa/membrana, o una mezcla de dos o más de ellos. Aunque no se pretende la adhesión a ninguna teoría, se cree que el agente desorganizador de membrana puede hacer que los priones sean más susceptibles a la escisión proteolítica con la enzima desactivadora de priones. Los agentes desorganizadores de la estructura lipídica pueden comprender una o múltiples enzimas lipasa. Las lipasas que se pueden usar incluyen las disponibles en Novozymes bajo las marcas registradas Lipolase y Lipex; las disponibles en Genencor bajo la marca registrada Lipolax Ultra; y las disponibles en Enzyme Solutions Pty Ltd. bajo la marca registrada G-Zyme G999. Los agentes desorganizadores del soporte de glucosa/membrana que se pueden usar pueden incluir una o múltiples enzimas tales como glucosidasas (por ejemplo, Lysozyme), glucosa oxidasas, amilasas, celulasas, manasas, p-glucanasas, mezclas de dos o más d ellas, y similares. El agente desorganizador de membrana puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en del intervalo de hasta aproximadamente 30 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 1 a aproximadamente 30 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 3 a aproximadamente 20 por ciento en peso.

El agente potenciador de actividad se puede usar para reforzar o aumentar la actividad de la enzima desactivadora de priones. El agente potenciador de la actividad se puede seleccionar en base a la o las enzimas desactivadoras de priones usadas en la composición desactivadora de priones. El agente potenciador de la actividad puede actuar como estabilizador del sitio activo de la enzima. El agente potenciador de la actividad puede comprender iones de calcio o sales de los mismos. El agente potenciador de la actividad puede comprender cloruro de calcio. La concentración del agente potenciador de la actividad que puede estar presente en la composición desactivadora de priones se puede seleccionar según se desee alcanzar un nivel particular o esperado de actividad enzimática. El agente potenciador de la actividad puede estar presente en la composición desactivadora de priones a una concentración de hasta aproximadamente 1 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,8 por ciento en peso y, en una modalidad, desde aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5

por ciento en peso.

El codisolvente puede comprender uno o más polioles que contienen únicamente átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. El codisolvente puede comprender uno o múltiples polioles de C_2 a C_6 tales como 1,2-propanodiol, 1,2-butanodiol, hexilenglicol, glicerol, sorbitol, manitol y glucosa. También se pueden usar glicoles, políglicoles, polióxidos y glicol-éteres superiores como codisolventes. El codisolvente puede comprender uno o múltiples alcoholes de éter alquílico tales como metoxietanol, acetato de metoxietanol, butiloxietanol (disolvente butil "cellosolve"), propilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, éter monoetílico de dietilenglicol, éter monopropílico de dietilenglicol, éter monobutílico de dietilenglicol, éter metílico de tripropilenglicol, éter metílico de propilenglicol, éter metílico de dipropilenglicol, acetato de éter metílico de propilenglicol, acetato de éter metílico de dipropilenglicol, n-butil éter de etilenglicol, 1,2-dimetoxietano, 2-etoxi etanol, 2-etoxi-etilacetato, fenoxi etanol, y n-propil éter de etilenglicol.

Se pueden usar mezclas de dos o más de los codisolventes citados El codisolvente puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 50 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 10 a aproximadamente 35 por ciento en peso.

El tensioactivo puede comprender uno o múltiples tensioactivos aniónicos, catiónicos, no iónicos y/o zwiteriónicos. El tensioactivo puede mostrar un equilibrio hidrófilo lipófilo (HLB) en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 25. El tensioactivo puede comprender uno o múltiples óxidos de amina, copolímeros en bloque de óxido de etileno y óxido de propileno, ésteres fosfato, poliglucósidos de alquilo, alcoxilatos de alcohol (por ejemplo, etoxilatos de alcohol), ácido dodecilbenceno-sulfónico, 1- octano sulfonato sódico, mezclas de dos o más de estos, y similares. El tensioactivo puede comprender uno o múltiples sulfatos, sulfonatos (por ejemplo, sulfonatos de C_{14}-C_{18}), ácidos sulfónicos, etoxilatos, sarcosinatos, sulfosuccinatos, o una mezcla de dos o más de ellos. Éstos pueden incluir lauril éter sulfato sódico, lauril sulfato de trietanolamina, lauril sulfato de magnesio, ásteres sulfosuccinato, lauril sulfato de amonio, sulfonatos de alquilo, lauril sulfato sódico, sulfonatos sódicos de alfa-olefinas, sulfatos de alquilo, etoxilatos sulfatados de alcohol, etoxilatos sulfatados de alquil-fenol, xileno sulfonato sódico, sulfonatos de alquil- 5 benceno, dodecilbenceno sulfonato de trietanolamina, dodecilbenceno sulfonato sódico, dodecilbenceno sulfonato de calcio, ácido xiieno-suifónico, ácido dodeciibenceno-sulfónico, sarcosinatos de N-alcoilo, lauroil sarcosinato sódico, dialquil-sulfosuccinatos, N-alcoil-sarcosinas, lauroil-sarcosina, o una mezcla de dos o más de estos. El tensioactivo puede comprender óxido de octil dimetilamina, decii dimetilamina, dodecil dimetilamina, o una mezcla de dos o más de estos. Un tensioactivo anfótero que se puede utilizar es Mackam ODP- 45M, que se encuentra disponible en Mclntyre y se identifica como etil hexilimino dipropionato disódico. Un tensioactivo n iónico que se puede usar es Berol 508, disponible en Akzo-Nobel e identificado como un alcohol etoxilado. El tensioactivo puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración dentro de intervalo de a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 por ciento en peso.

El agente de acoplamiento puede comprender uno o múltiples acopladores aniónicos tales como xileno sulfonato sódico o cumeno sulfonato sódico; uno o múltiples acopladores no iónicos tales como óxidos de amina y poliglucósidos de alquilo, y sus derivados; uno o múltiples acopladores anfóteros tales como etil hexilimino dipropionato disódico; uno o múltiples agentes de acoplamiento catiónico; o una mezcla de dos o más de estos. El agente de acoplamiento puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, dentro de un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, dentro de un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 35 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 por ciento en peso y, en una modalidad, en una concentración en el intervalo de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 por ciento en peso.

El inhibidor de la corrosión puede comprender o más de Irgacor L190, Irgacor L190 Plus, Irgamet 42, CarboShield 1000, o una mezcla de dos o más de estos. Irgacor L190, Irgamet 42 y Carbo Shield 1000 se describieron anteriormente. Irgacor L190 Plus es 2,4,6-tri-(ácido 6-aminocaproico)-1,3,5-triazina, disponible de Ciba. El inhibidor de la corrosión puede comprender uno o múltiples azoles. Los azoles pueden incluir triazoles tales como benzotriazol, toliltriazol, carboxibenzotriazol, o mezclas de dos o más de estos.

Se pueden usar sales de los triazoles tales como toliltriazol sódico. Se pueden usar sales de didecildimetilamonio con toliltriazol, benzotriazol, carboxibenzotriazol, etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il)metil]imino]bis-, mezclas de dos o más de estos. Se pueden usar agentes complejantes que contribuyen a la prevención de la corrosión a modo de inhibidores de la corrosión, agentes complejantes, o ambos. Los agentes complejantes que se pueden usar pueden incluir Octaquest A65, Trilon M, Baypure CX100, Dissolvine GL, HEDP, sales de HEDP, ATMP, sales de ATMP, DTPMPA, sales de DTPMPA, EDDS, o una mezcla de dos o más de estos. El inhibidor de la corrosión puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente

40 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 por ciento en peso.

El agente oxidante puede comprender uno o más de peróxido de hidrógeno; dióxido de cloro; sales generadoras de peróxido tales como sales de percarbonato, perborato, permanganato o una mezcla de dos o más de estos; perácidos tales como ácido peracético y similares; o una mezcla de dos o más de estos. El agente oxidante puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 8 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 7 por ciento en peso.

El agente reductor puede comprender uno o más de tioles, fosfinas, fosfitos, o una mezcla de dos o más de estos. El agente reductor puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 8 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 7 por ciento en peso.

El ácido puede comprender uno o más de ácido fosfórico; ácido nítrico; ácido bórico; y/o uno o más ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido cítrico, ácido glicólico y/o ácido salicílico; o una mezcla de dos o más de estos. El ácido puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 8 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 6 por ciento en peso.

El antiespumante puede comprender uno o más compuestos de silicio tal como sílice dispersa en polidimetilsiloxano. El antiespumante puede comprender una o más amidas grasas, ceras hidrocarbonadas, ácidos grasos, ésteres grasos, alcoholes grasos, jabones de ácidos grasos, etoxilatos, aceites minerales, ésteres de polietilenglicol, copolímeros en bloque de polioxietileno-polioxipropileno, ésteres de fosfato de alquilo tales como fosfato monoestearílico, o una mezcla de dos o más de estos. El antiespumante puede estar en forma de una solución o emulsión que contiene silicona. El antiespumante puede estar presente en la composición desactivadora de priones en una concentración en el intervalo de hasta aproximadamente 10 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 5 por ciento en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 3 por ciento en peso.

La composición desactivadora de priones puede tener un pH con una alcalinidad suficientemente reducida, de modo que no dañe los instrumentos o artículos tratados, ni afecte negativamente a la estabilidad de las enzimas. Además de la selección de una enzima particular, el pH de la composición desactivadora de priones se puede controlar ajustando otros factores que incluyen la concentración de enzimas, temperatura, y/o tipo y/o concentración de los agentes potenciadores de la actividad. La composición desactivadora de priones puede tener un pH adecuado para la enzima desactivadora de priones, que le permita desactivar en grado suficiente el material priónico. El pH de la composición desactivadora de priones se puede seleccionar en base a la o las enzimas desactivadoras de priones usadas en la composición. Las enzimas desactivadoras de priones pueden mostrar una actividad suficiente sólo dentro de un determinado intervalo de pH, o a un pH particular. La composición desactivadora de priones puede tener un pH en el intervalo de aproximadamente 7 a aproximadamente 12 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 7 a aproximadamente 11 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 7 a aproximadamente 10 y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

La composición desactivadora de priones se puede formar mezclando los diversos componentes en un diluyente o disolvente apropiado, tal como agua. En una modalidad, la composición desactivadora de priones se puede suministrar como una composición premezclada, que comprende todos los ingredientes, incluido el agente desnaturalizante de priones y la enzima desactivadora de priones. En una modalidad, la composición desactivadora de priones se puede suministrar como dos soluciones o composiciones separadas, en donde una composición comprende el agente desnaturalizante de priones, y la otra composición comprende la enzima desactivadora de priones. A continuación, las composiciones separadas se pueden combinar antes de su uso en un proceso de limpieza, descontaminación y/o esterilización. Cuando el agente desnaturalizante de priones y la enzima desactivadora de priones se suministran como composiciones o soluciones separadas, las composiciones o soluciones se pueden entregar por separado o formando parte de un kit.

La composición desactivadora de priones puede diluirse en un disolvente o diluyente adecuado. El disolvente o diluyente puede comprender agua. El agua puede ser potable de cualquier municipio, o de origen natural. El agua puede ser desionizada o purificada usando osmosis o destilación. El agua puede comprender agua blanda. La concentración de la composición desactivadora de priones en el diluyente puede ser de cualquier nivel, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 1/40 oz/gal (onzas fluidas de composición desactivadora de priones por galón de diluyente) a

aproximadamente 1/10 oz/gal. La concentración de la composición desactivadora de priones en el diluyente puede estar dentro de un intervalo de a aproximadamente 20 % en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 20 % en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 10 % en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 4% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3,5% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3,2% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 3% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2,5% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2% en peso. De acuerdo con esto, la concentración del agente desnaturalizante de priones y la concentración de la enzima desactivadora de priones en la composición desactivadora de priones diluida estarán reducidas en el grado correspondiente. Por ejemplo, una composición desactivadora de priones que contiene 0,5% en peso de agente desnaturalizante de priones, y que se diluye a 1 oz/gal (0,8% en peso) en agua, tiene una concentración de agente desnaturalizante de priones de 40 partes por millón (ppm). La concentración de disolvente o diluyente en la 20 composición desactivadora de priones según la invención diluida puede estar en el intervalo de hasta aproximadamente 99,99% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 99,99% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 10 a aproximadamente 95% en peso y, en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 15 a aproximadamente 90 % en peso.

Se describe un método o procedimiento para tratar materiales contaminados con proteínas infecciosas, usando la composición desactivadora de priones. Los materiales a tratar pueden incluir superficies y/o artículos infectados con proteínas, incluidas superficies y/o artículos infectados con priones. Este método puede comprender poner en contacto el material infectado con la composición desactivadora de priones. La composición desactivadora de priones se puede aplicar al material que se debe tratar por cualquier método adecuado, incluidos recubrimiento, pulverización, mojado e inmersión. Las temperaturas pueden estar en el intervalo de aproximadamente 20°C a aproximadamente 70°C, y en una modalidad, en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 60°C. El material que se debe tratar puede estar expuesto a la composición desactivadora de priones durante un periodo de tiempo suficiente para desactivar las proteínas infecciosas (por 10 ejemplo, priones) sobre y/o en el material. Este periodo de tiempo puede estar comprendido en el intervalo de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 2 horas y, en una modalidad, desde aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora. En una modalidad, la composición desactivadora de priones se puede usar a concentración baja y baja temperatura, y el tiempo de contacto para desactivar las proteínas infecciosas o priones puede ser relativamente prolongado, por ejemplo, alrededor de 2 horas o más y, en una modalidad, de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 20 horas y, en una modalidad, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 horas y, en una modalidad, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 horas.

El material que se puede tratar con la composición desactivadora de priones puede incluir superficies de instrumentos empleados en procedimientos médicos, dentales y/o farmacéuticos, así como superficies de equipos y superficies de trabajo usadas en la industria procesadora de alimentos y bebidas. Estas pueden incluir paredes, suelos, techos, tanques de fermentación, conductos de suministro de líquidos. Los materiales a tratar pueden incluir superficies contaminadas de hospitales, plantas industriales y laboratorios de investigación. Los materiales que se deben tratar pueden incluir: superficies y artículos que intervienen en el tratamiento de residuos sanitarios tales como sangre, tejidos y otros residuos corporales, antes de su eliminación; habitaciones y jaulas usadas para albergar animales en los que se conoce o se sospecha una infección con priones; superficies y artículos relacionados con la descontaminación de zonas infectadas con BSE, incluidos mataderos e instalaciones de procesamiento de alimentos; materiales relacionados con el reprocesamiento, descontaminación o desinfección de dispositivos médicos; sistemas de esterilización; superficies y artículos relacionados con la formulación de productos farmacéuticos, medicamentos, y agentes de limpieza que tienen eficacia antifúngica, antiviral, antituberculosa, y/o antibacteriana, así como eficacia antipriónica.

Opcionalmente, después de exponer el material infectado a la composición desactivadora de priones, el material se puede someterse, adicionalmente, a operaciones de limpieza suplementarias. Estas operaciones de limpieza adicionales pueden incluir procedimientos de esterilización. Las operaciones de esterilización pueden incluir operaciones de esterilización de fase líquida en las que se usan perácidos (por ejemplo, ácido peracético) y/o peróxidos, y/u operaciones de esterilización en fase de vapor en las que se usan, por ejemplo, peróxidos tales como peróxido de hidrógeno, y similares. El vapor de peróxido de hidrógeno se puede usar en combinación con amoniaco. Se pueden usar otros oxidantes tales como hipocloritos, soluciones de ozono, y similares.

La presente invención se puede comprender mejor con referencia a los siguientes ejemplos. Los ejemplos pretenden mostrar modalidades más específicas de la invención.

Ejemplo 1 (proporciona antecedentes técnicos)

Las formulaciones identificadas en la tabla siguiente son composiciones desactivadoras de priones dentro del alcance de la invención. En la tabla siguiente, todos los valores numéricos se expresan en porcentajes en peso, con la excepción de que el valor numérico para etanolamina hace referencia al pH para la formulación alcanzado con la adición de una cantidad adecuada de etanolamina. Cada formulación está preparada en agua blanda. La cantidad de agua blanda en cada formulación es la cantidad requerida para llevar la formulación hasta un total de 100 % en peso.

	% en peso																					
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
Propilenglicol	20	20	20	20	20	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15	15	15	15	15	10	10	10
Ácido cítrico	4	6	4	4	4	4	4	4	4	6	4	6	4	2	2	1	1	3	4	6	4	2
Cloruro de calcio	0.1	0.15	0.15	0.15	0.1	0.15	0.1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.15	0.15	0.1	0.05	0.1	0.15	0.2	0.15	0.1
C_{9-11} Pareth-8	1	2	5	3	0	1	1	3	0	5	1	2	4	0	1	1	3	3	1	1.5	3	5
C_{12-13} Pareth-7	0	1	0	0	3	1	0	0	2	0	0	1	0	4	1	1	1	1	3	1.5	0	0
Óxido de octildimetilamina	1	2	3	3	0	3	1	2	3	2	0	1	1	0	3	0	0	0	1	2	1	0
Óxido de decildimetilamina	1	0	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	1
Enzima Proteasa Savinasa (subtilisina)	4	4	0	4	8	2	4	0	2	2	4	0	2	2	4	4	2	3	3	0	0	4
Enzima Proteasa Alcalasa (subtilisina)	4	4	8	4	0	2	0	4	2	2	0	4	2	2	0	0	2	1	1	4	4	0
Ácido 6,6',6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico)	0	1	1	1	0	1	0	2	1	0	0	2	1	0	2	2	1	0	1	0	0.5	0.5
Etanolamina	Añadir hasta pH 8.00	Añadir hasta pH 6.50	Añadir hasta pH 7.00	Añadir hasta pH 7.75	Añadir hasta pH 7.50	Añadir hasta pH 7.75	Añadir hasta pH 8.50	Añadir hasta pH 7.00	Añadir hasta pH 7.00	Añadir hasta pH 8.50	Añadir hasta pH 6.50	Añadir hasta pH 8.00	Añadir hasta pH 8.0	Añadir hasta pH 7.25	Añadir hasta pH 7.25	Añadir hasta pH 7.25	Añadir hasta pH 7.50	Añadir hasta pH 8.0	Añadir hasta pH 6.5	Añadir hasta pH 8.50	Añadir hasta pH 6.75	Añadir hasta pH 8.25
Hidróxido de potasio (40%)	0	1	1	0	0	0.5	1	0	0	2	1	3	0	0	0.2	0	0	0.5	0.5	2	1	0
Meroxapol 252 (copolímero de bloque óxido de propileno/óxido de etileno	2	0	1	1.1	1.1	1.3	1.1	1.5	1.5	0	1.5	2	0	3	1.1	0	2	1.3	1.5	0	0	2
Meroxapol 174 (copolímero de bloque óxido de propileno/óxido de etileno	0	2	1	0	0	0.5	1.3	1.1	0	1.5	0	0	2	0	0	1.1	0	0.3	0	2	1	0
Metilbenzotriazol sódico (toliltriazol sódico 50%)	0	1	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	1.5	0.5	0
Benzotriazol sódico (50%)	1	0	0	0	1	0	0	2	1.5	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0.5	1

	% en peso																					
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
Fragancia	0.1	0.1	0.1	0.08	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.05	0.05	0.08	0.025	0.025	0.05	0.05	0.08	0.025	0.025	0.1	0.05	0.1
Copolímero en bloque óxido de etileno/óxido de propileno (1)	0	1	1	0	0	2	0	1	1	1	2	2	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0
Copolímero en bloque óxido de etileno/óxido de propileno (2)	2	1	2	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3	1	0	0	0	0
iminodisuccinato tetrasódico	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	3	0	2	0	1	0	0	0	0	0	2
Etilendiaminodisuccinato tetrasódico	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	3	0	0	0	2	0	0	0	1	0
Carbonato/bicarbonato de dimetil didecil amonio	2	0	1.5	1.5	1	1	0	2	1.5	2	1.5	2	2	0	1.5	1	2	0.5	0	0.5	1	2
Emulsión de silicona 10 %	0.1	0.1	0.1	0.025	0	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.05	0.1	0.1	0.025	0	0	0.075	0	0.1	0.1	0.1	0.1

Se cree que el propilenglicol actúa como conservante y reduce la actividad del agua.

El ácido cítrico se usa para ajustar el pH de la formulación.

Se cree que el cloruro de calcio actúa como agente potenciador de la actividad.

C_{9-11} Pareth-8 es un etoxilato de alcohol primario, lineal, biodegradable, con 8 moles de etoxilación. Este material, que es un tensioactivo no iónico con un valor HLB de 13,9, está comercializado por Tomadol bajo el nombre Tomadol 91- 8. Se cree que este material aporta características de humectación, emulsificación/solubilización y de baja espumación.

C_{12-13} Pareth-7 es un etoxilato de alcohol primario lineal, biodegradable, con 7 moles de etoxilación. Este material, que es un tensioactivo no iónico con un valor HLB de 12, está comercializado por Tomah bajo el nombre Tomadol 23-6.5. Se cree que este material aporta características de humectación y emulsificación/solubilización.

El óxido de octildimetilamina es un tensioactivo no iónico que se cree aporta características de humectación y baja espumación, así como beneficios hidrotróficos. El material está comercializado por Mclntyre bajo el nombre Mackamine C-8.

El óxido de decildimetilamina es un tensioactivo no iónico que se cree aporta características de humectación y baja espumación, así como beneficios hidrotrópicos. El material está comercializado por Mclntyre bajo el nombre Mackamine C-10.

La enzima proteasa Savinasa (subtilisina) es una serina proteasa inespecífica producida por un *Bacillus* genéticamente modificado. Este material lo comercializa Novozymes bajo el nombre Savinasa 16.0L, Tipo EX.

La enzima proteasa Alcalasa (subtilisina) es una proteasa inespecífica producida por *Bacillus lichenformis.* Esta enzima contiene un factor de estabilización (ácido 4-formílfenilborónico) que se cree incrementa la estabilidad enzimática. El material está comercializado por Novozymes bajo el nombre Alcalasa Ultra 2.5L.

El ácido 6,6',6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) es un ácido policarboxílico orgánico que se cree que actúa como agente complejante de cobre (II) y como inhibidor de la corrosión para metales blandos tales como aluminio y aluminio anodizado. Este material está disponible por Ciba como Irgacor L-190.

Se considera que la etanolamina actúa como una fuente de alcalinidad y de aminas para solubilizar el ácido policarboxílico. Este material puede potenciar la inhibición de la corrosión de los metales blandos. Este material puede neutralizar el ácido cítrico y ofrecer un sistema de tamponamiento para la formulación.

El hidróxido de potasio se usa para ajustar el pH de la formulación.

Meroxapol 252 es un copolímero en bloque biodegradable, de óxido de propileno y óxido de etileno, que se cree que aporta características de emulsificación de aceites y contrarias a la espumación. Este material es un tensioactivo con un valor HLB de 4. BASF comercializa este material bajo el nombre Pluronic 25R2.

Meroxapol 174 es un copolímero en bloque de óxido de propileno y óxido de etileno, biodegradable, que se cree aporta características de emulsificación de aceites y contra la espumación. Este material es un tensioactivo con un valor HLB de 12. BASF comercializa este material bajo el nombre Pluronic 17R-4.

Se cree que el metilbenzotriazol sódico (toliltriazol sódico) actúa como agente complejante de cobre (II) e inhibe la corrosión de metales blandos tales como cobre y bronce. Se estima que la alcalinidad de este material contribuye a solubilizar el ácido policarboxílico.

Se considera que en benzotriazol sódico actúa como agente complejante de cobre (II) e inhibe la corrosión de metales blandos tales como cobre y bronce. Se estima que la alcalinidad de este material contribuye a solubilizar el ácido policarboxílico.

La fragancia que se identifica en la tabla anterior puede ser cualquier fragancia adecuada para un sistema de solubilidad de agua y propilenglicol. Una fragancia que se puede utilizar es Fragancia Chemia núm. 33498 de Chemia Corporation.

El copolímero en bloque de óxido de etileno/óxido de propileno (1) es un copolímero en bloque de óxido de etileno y óxido de propileno, biodegradable, que tiene un valor HLB de 2. Se cree que este material aporta características de emulsificación de aceites, detergencia y control de espumación. Este material está comercializado por Dow Chemical bajo el nombre Tergitol L-81.

El copolímero en bloque de óxido de etileno/óxido de propileno (2) es un copolímero en bloque de óxido de etileno y óxido de propileno, biodegradable, que tiene un valor HLB de 7. Se cree que este material aporta características de emulsificación de aceites, detergencia y control de espumación. Este material está disponible por Dow Chemical como

Tergitol L-62.

El iminodisuccinato tetrasódico es un quelante biodegradable que puede actuar como agente complejante de cobre (II) y puede inhibir la corrosión de metales blandos y ferrosos. Se cree que la alcalinidad de este material puede contribuir a solubilizar el ácido policarboxílico.

El etilendiaminodisuccinato tetrasódico es un quelante biodegradable que puede actuar como agente complejante de cobre (II) y puede inhibir la corrosión de metales blandos y ferrosos. Se cree que la alcalinidad de este material contribuye a solubilizar el ácido policarboxílico.

El carbonato/bicarbonato de dimetil didecil amonio se cree que actúa como agente complejante de cobre (II) e inhibe la corrosión de metales blandos tales como aluminio y aluminio anodizado. Este material, que es una amina cuaternaria con un contraión de carbonato/bicarbonato está disponible por Lonza Incorporated como CarboShield 1000.

La emulsión de silicona al 10 %, que se cree que actúa como antiespumante basado en silicona, y se encuentra disponible de Dow Corning bajo el nombre Emulsión Antiespumante Dow Corning DSP.

En los ejemplos siguientes, se usan ensayos de transferencia de Western para evaluar la eficacia de las composiciones desactivadoras de priones indicadas contra materiales infectados con priones. El ensayo de transferencia de western, denominado también ensayo de inmunotransferencia, es un método que se usa para detectar una proteína específica en una muestra de homogeneizado o extracto de tejido determinado. Usa electroforesis sobre gel para separar las proteínas nativas o desnaturalizadas de acuerdo con la longitud del polipéptido (condiciones de desnaturalización), o por la estructura tridimensional de la proteína (nativa/condiciones no desnaturalizantes). Seguidamente, las proteínas son transferidas a una membrana en donde son analizadas (detectadas) usando anticuerpos específicos contra la proteína diana. Las sondas se etiquetan y se fijan a la proteína de interés. Se efectúan aproximaciones de tamaño comparando las bandas teñidas con las de un marcador o escala cargados durante la electroforesis.

Ejemplo 2 (proporciona antecedentes técnicos)

La composición siguiente se usa como formulación de base para los Ejemplos 2A y 2B. El toliltriazol sódico, que se cree que actúa como agente complejante, se encuentra a un nivel de concentración relativamente bajo.

	Partes en peso
Agua blanda	198,31
Hidróxido de potasio	24,00
Ácido cítrico	8,01
Propilenglicol	112,07
Borato sódico	13,05
Cloruro de calcio	0,20
C_{9-11} Pareth-8	20,73
Toliltriazol sódico	0,41
Total	398,00

Ejemplo 2A (proporciona antecedentes técnicos)

La composición del Ejemplo 2 (200,09 gramos) se mezcla con hidróxido de potasio (0,22 gramos). El pH de la formulación de base resultante es 10,00.

Ejemplo 2B (proporciona antecedentes técnicos)

La composición el Ejemplo 2 (197,91 gramos) se mezcla con hidróxido de potasio (0,76 gramos). El pH de la formulación de base resultante es 12,00.

Ejemplo 3 (proporciona antecedentes técnicos)

Se prepara la composición siguiente. El toliltriazol sódico se encuentra en una concentración relativamente alta en comparación con el Ejemplo 2.

	Partes en peso
Agua blanda	330,60
Trietanolamina	108,02
Ácido cítrico	36,04
Propilenglicol	252,10
Borato sódico	29,50
C_{9-11} Pareth-8	45,12
Toliltriazol sódico	9,05
Total	807,58

Esta composición (180,92 gramos) se mezcla con cloruro de calcio (0,34 gramos), agua blanda (19,68 gramos), e hidróxido de potasio (19,91 gramos). El pH de la formulación de base resultante es 11,00.

Ejemplo 4

Se prepara la composición siguiente.

	Partes en peso
Agua blanda	330,53
Trietanolamina	107,99
Ácido cítrico	36,15
Propilenqlicol	251.96
Borato sódico	29,37
C_{9-11} Pareth-8	45,01
Benzotriazol	9,10
Total	807,44

Esta composición (180,26 gramos) se mezcla con agua blanda (19,75 gramos) e hidróxido de potasio (22,05 gramos). El pH de la formulación de base resultante es 11,00.

Ejemplo 5

Se analiza una cepa de homogeneizados de cerebro infectados con priones. Se trata de la cepa de laboratorio 263K (cepa de tembladera adaptada al hámster). Se usan las formulaciones de base de los Ejemplos 2A, 2B, 3 y 4. Se añaden 1,5 ml de cada formulación de base a 48,5 ml de agua y se calienta a 55 °C. A cada formulación se añaden 64 microlitros de enzima o agua (control). Se retiran 80 microlitros de la formulación y se añaden 20 microlitros de homogeneizado de cerebro. Las combinaciones resultantes se mezclan y se usan para llevar a cabo ensayos de transferencia de western. Para cada ensayo de transferencia de western, se carga una muestra correspondiente a 1 mg en un gel SDS-PAGE (poliacrilamida al 12 %) y se someten a electrotransferencia sobre una membrana de nitrocelulosa. La proteína priónica se detecta con el anticuerpo monoclonal de ratón SAF-60 generado contra el codón PrP de hámster 57-161 (de CEA-SPI, Saclay, Francia), seguido de un anticuerpo anti-ratón de cabra conjugado con peroxidasa. La inmuno-reactividad se visualiza por quimioluminiscencia y se detecta por autorradiografía convencional.

Los resultados de las pruebas proporcionados en la Fig. 1 muestran el beneficio de la enzima proteasa Savinasa con respecto a las otras enzimas ensayadas (es decir, una enzima experimental, Alcalasa, Everlasa, Purafect ox y Properasa). Las formulaciones de base analizadas son de los Ejemplos 2A, 2B, 3 y 4. El control negativo es para el homogeneizado de cerebro de hámster sano al 20 %. El control positivo es para el homogeneizado de cerebro de hámster enfermo (236K) al 20 %. El control positivo 1:5 es para una dilución 1:5 del homogeneizado de cerebro enfermo al 20 %. El tiempo de exposición a la enzima es de 30 minutos. El tiempo de exposición de la película es de 1 minuto. Sin enzima, no se registra ningún efecto de las formulaciones ensayadas. Hay niveles variables de eficacia para las enzimas cuando se las combina con las formulaciones de base, en donde la enzima proteasa Savinasa exhibe una eficacia significativa.

Los ensayos expuestos en la Fig. 2 emplean el anticuerpo SAF-60 (núcleo de la proteína). La formulación de base ensayada procede del Ejemplo 4. El control negativo es para el homogeneizado de cerebro de hámster sano al 20 %. El control positivo es para homogeneizado de cerebro de hámster enfermo (236 K) al 20 %. El control positivo 1:5 es para una dilución 1:5 del homogeneizado de cerebro enfermo al 20 %. El tiempo de exposición de la película es de 1 o de 5 minutos. Los resultados indican que la enzima proteasa Savinasa, en sí misma, carece del nivel de actividad de degradación de la enzima cuando se usa en la formulación de base del Ejemplo 4.

Fig. 3 muestra los resultados cuando se emplea el anticuerpo 3F4 (inmediatamente anterior al núcleo de la proteína). La formulación de base analizada procede del Ejemplo 4. El control negativo es para el homogeneizado de cerebro de hámster sano al 20 %. El control positivo es para el homogeneizado de cerebro de hámster enfermo (236K) al 20 %. El control positivo 1:5 es para una dilución 1:5 del homogeneizado de cerebro enfermo al 20 %. El tiempo de exposición de la película es de 1 o de 5 minutos. Los resultados indican que la enzima proteasa Savinasa, en sí misma, carece del nivel de actividad de degradación de la enzima cuando se usa en la formulación de base del Ejemplo 4.

Los resultados de las pruebas representados en la Fig. 4 muestran el efecto de cantidades crecientes de la enzima proteasa Savinasa (16 a 64 microlitros) a dos niveles (0,5 ml y 1,5 ml) de la formulación de base del Ejemplo 4. Los valores numéricos 16, 32 y 64 en Fig. 4 se refieren a microlitros de la enzima proteasa Savinasa. El control negativo es para el homogeneizado de cerebro de hámster sano al 20 %. El control positivo es para el homogeneizado de cerebro de hámster enfermo (236K) al 20 %. El control positivo 1:5 es para una dilución 1:5 del homogeneizado de cerebro enfermo al 20 %. El tiempo de exposición a la enzima es de 30 minutos. El tiempo de exposición de la película es de 1 minuto. Los resultados indican que la enzima exhibe un mejor rendimiento con cantidades crecientes de la formulación de base.

Los resultados que se representan en Fig. 5 son con tiempos de exposición de la película de 5 minutos. Estos resultados demuestran que las formulaciones de los Ejemplos 2A y 2B con niveles relativamente bajos de agente complejante (es 30 decir, toliltriazol sódico) tienen actividades simulares a pH 10 (Ejemplo 2A) y pH 12 (Ejemplo 2B) durante un periodo de contacto de 30 minutos. El control negativo es para homogeneizado de cerebro de hámster sano al 20 %. El control positivo es para homogeneizado de cerebro de hámster enfermo (236 K) al 20 %. El control positivo 1:5 es para una dilución 1:5 del homogeneizado de cerebro enfermo al 20 %. Después de 1 hora de periodo de contacto, la formulación de pH 10 muestra una mayor escisión de la proteína priónica que la formulación de pH 12. Se evidencia el mismo efecto de mejor actividad durante 1 hora que durante 30 minutos para las muestras de pH 11 (Ejemplos 3 y 4) con niveles relativamente altos de agentes complejantes (es decir, toliltriazol sódico en 10 el Ejemplo 3 y benzotriazol en el Ejemplo 4).

Ejemplo 6

Se prepara la siguiente formulación de base.

	Partes en peso
Hidróxido de potasio	7
Trietanolamina	12
Ácido cítrico	4
Propilenglicol	28
Borato sódico	3,27
Cloruro de calcio	0,16
C_{9-11} Pareth-8	5

La formulación de base (60 microlitros) se mezcla con agua (2,0 ml) y se calienta a 55 °C. Esta formulación tiene un pH de 9. Se añaden 8 microlitros de enzima proteasa Savinasa o agua (control). Se retiran 80 microlitros de la formulación resultante y se añaden 20 microlitros del homogeneizado de cerebro al que se ha hecho referencia en el Ejemplo 5. La mezcla resultante se combina y se expone durante un periodo de contacto de 30 minutos. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western. En la Fig. 6 se muestran los resultados de los ensayos de transferencia de western. En la Fig. 6, el lado izquierdo en cada línea (marcada toliltriazol al 0 %, toliltriazol al 1 %, etc.) es parta el ensayo con la enzima, y el lado derecho de cada pista es para el ensayo sin enzima. Los resultados demuestran el beneficio de agregar toliltriazol a la formulación de base, con un efecto creciente a todas las concentraciones, siendo especialmente ventajoso el efecto de 3 %. En Fig. 6 se muestran tiempos de exposición a la película de 5 minutos y 1 hora. Se muestran dos canales por columna, en donde el lado izquierdo corresponde al uso de enzima y el lado derecho muestra el trabajo sin enzima. Los resultados indican que una concentración de toliltriazol al 1% mejora de manera importante la eficacia. Con toliltriazol al 3 %, la proteína resulta completamente destruida. El efecto de toliltriazol al 5 % está algo

reducido en comparación con toliltriazol al 3 %.

Ejemplo 7

Se prepara la siguiente formulación de base.

	Partes en peso
Hidróxido de potasio	7
Trietanolamina	12
Ácido cítrico	4
Propilenglicol	28
Borato sódico	3,27
Cloruro de calcio	0,16
Tergitol 15-S-7 (etoxilato de alcohol secundario de Dow)	10
Benzotriazol	1

La formulación de base (60 microlitros) se mezcla con agua (2,0 ml) y se calienta a 55 °C. Se añaden 8 microlitros de enzima proteasa Savinasa o agua (control). Se retiran 80 microlitros de la formulación resultante y se añaden 20 microlitros del homogeneizado de cerebro al que se ha hecho referencia en el Ejemplo 5. La mezcla resultante se combina y se expone durante un periodo de contacto de 30 minutos. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western con los resultados que se muestran en Fig. 7. En Fig. 7, el lado izquierdo de cada pista (en donde los planos están marcados pH 8,0, pH 8,5 y pH 9,0) es para el ensayo realizado usando enzima, y el lado derecho de cada pista es para el ensayo sin enzima. Estos resultados muestran la actividad dependiente del pH de la formulación de base con benzotriazol al 1 %. La actividad a pH 8,5 y 8,0 es menor que con pH 9,0.

Ejemplo 8

Se prepara la siguiente formulación de base.

	Partes en peso
Hidróxido de potasio	7
Trietanolamina	12
Ácido cítrico	4
Propilenglicol	28
Borato sódico	3,27
C_{9-11} Pareth-8	5

Se añaden los agentes complejantes que se muestran en Fig. 8 a la formulación de base, a los niveles de concentración indicados en Fig. 8. En Fig. 8, 15 se usan las siguientes abreviaturas o marcas registradas:
BZ: benzotriazol
TT: toliltriazol
EDDS: ácido etilendiaminosuccínico
EDTA: ácido etilendiaminotetracético
Trilon M: ácido trisódico metilglicinacético
Baypure CX100: ácido tetrasódico triiminodisuccínico
Irgacor L190: ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-tri-il-triimino) tris (hexanoico)
Irgamet 42: etanol-2,2'-[[metil-1 H-benzotriazol-1-il)metil]imino]bis-
CarboShield 1000: carbonato/bicarbonato de didecildimetilamonio

Las formulaciones (60 microlitros) que se muestran en las tres primeras columnas a la izquierda en la Fig. 8 se mezclan cada una con agua (2,0 ml) y se calienta a 55°C. Estas formulaciones tienen un pH de 9. Se añaden 8 microlitros de

enzima proteasa Savinasa o agua (control), Se retiran 80 microlitros de las formulaciones y se añaden 20 microlitros del homogeneizado de cerebro al que se ha hecho referencia en el Ejemplo 5. Las mezclas resultantes se exponen durante periodos de contacto de 30 minutos. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western y los resultados se muestran en las tres primeras columnas a la izquierda en la Fig. 8. Se usan tiempos de exposición a la película de 5 minutos y 1 hora. Para cada columna en la Fig. 8 hay dos canales, en los que el lado izquierdo es con enzima y el lado derecho es sin enzima. En cada caso, se muestra mejoría de la formulación de base en combinación con la enzima, en comparación con la formulación de base sin enzima.

Las formulaciones de base (0,75 ml) que se muestran en las ocho columnas a la derecha en la Fig. 8 se mezclan con agua (24,5 ml) y se calientan a 60°C. Estas formulaciones tienen un pH de 9. Se añaden 115 microlitros de enzima 10 proteasa Savinasa o agua (control). Se retiran 80 microlitros de la formulación y se añaden 0 microlitros del homogeneizado de cerebro al que se ha hecho referencia en el Ejemplo 5. Las mezclas resultantes se exponen durante periodos de contacto de 30 minutos. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western y los resultados se muestran en Fig. 8. En la Fig. 8, el lado izquierdo de cada pista (marcado sin complejante, TT al 1% y EDDS al 1 %, etc.) es para el ensayo que usa enzima, y el lado derecho de cada pista es para el ensayo sin enzima. En cada caso, se registra una mejoría de la formulación de base en combinación con la enzima, en comparación con la formulación de base sin enzima.

Ejemplo 9

Como Formulación de Base se usa la Formulación D de la tabla del Ejemplo 1. Se combina la siguiente composición aditiva, identificada en la Fig. 9 como “Refuerzo”, con la Formulación de Base a distintos niveles de concentración. La composición aditiva tiene la formulación siguiente:

	Partes en peso
Imino disuccinato tetrasódico	5,00
Toliltriazol sódico	5,04
Agua blanda	90,03

La Formulación de Base se dispersa en agua corriente a una concentración de 2% en peso y se combina con la composición aditiva en concentraciones en el intervalo desde 0 % en peso hasta 2,5% en peso para dar muestras con niveles variables de pH, como se muestra a continuación:

Composición Aditiva	pH
0%	8,01
0,5%	8,51
1%	8,76
1,5%	8,93
2,0%	9,06
2,5%	9,16

El agua corriente tiene un pH de 7,76. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western usando estas muestras y homogeneizado de cerebro. La concentración de homogeneizado de cerebro es de 4 % en peso. La concentración final de la Formulación de Base después de combinarla con el homogeneizado de cerebro es de 1,6 % en peso. La formulación de base (200 microlitros) se mezcla con agua corriente (10,0 mi) y se calienta a 55 °C. Se añaden 0,0 microlitros (0,0 %), 50 microlitros (0,5 %), 100 microlitros (1,0 %), 150 microlitros (1,5%), 200 15 microlitros (2,0 %) o 250 microlitros (2,5 %) de la composición aditiva. Se retiran 80 microlitros de la formulación resultante y se añaden 20 microlitros del homogeneizado de cerebro al 4 %. Se combina la mezcla resultante y se expone durante un periodo de contacto de 15 o 30 minutos. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western, y los resultados se muestran en Fig. 9. En la Fig. 9, el "control 1" es para el homogeneizado de cerebro al 4% sin adición de la Formulación de Base ni la composición aditiva. El "control 1:5" que se muestra en la Fig. 9 es para el homogeneizado de cerebro al 4 % diluido en agua corriente en una relación ponderal de 1 parte de homogeneizado de cerebro al 4 % por 5 partes de agua corriente. De manera similar, el "control 1:25" es para el homogeneizado de cerebro al 4 % diluido en agua corriente en una relación ponderal de 1:25. El “Refuerzo solo”) es para la composición aditiva (o Refuerzo) a una concentración de 1 % en peso o 2 % en peso tal como se indica en la Fig. 9 sin la Formulación de Base.

Ejemplo 10

Se repite el Ejemplo 9, con la excepción de que se usa agua desionizada en lugar de agua corriente. Se combina la

Formulación de Base en una concentración de 2% en peso en agua desionizada con la composición aditiva (o Refuerzo), para dar muestras con los siguientes niveles variables de pH:

Composición Aditiva	pH
0%	7,84
0,5%	8,41
1%	8,79
1,5%	8,96
2%	9,13
2,5%	9,27

El agua desionizada tiene un pH de 7,41. Se llevan a cabo ensayos de transferencia de western usando estas muestras y homogeneizado de cerebro al 4 % en peso. Los resultados aparecen en la Fig. 10.

Reivindicaciones

1. Un método para limpiar una superficie y/o artículo infectado por priones, el método comprende poner en contacto la superficie y/o el artículo con una composición desactivadora de priones que comprende al menos un agente desnaturalizante de priones que es al menos un agente complejante de cobre (II) seleccionado del grupo que consiste en ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), benzotriazol, toliltriazol, ácido trisódico metilglicinacético (Trilon M), ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) (Irgacor L190), etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il]metil]imino]bis- (Irgamet 42), y bicarbonato/carbonato de didecildimetilamonio (CarboShield 1000), y al menos subtilisina.

2. El método de la reivindicación 1, en donde el agente desnaturalizante de priones y la subtilisina entran en contacto con la superficie y/o el artículo simultánea o secuencialmente.

3. Un método para esterilizar una superficie y/o artículo infectado por priones, el método comprende:

   (a) poner en contacto la superficie y/o artículo con una composición desactivadora de priones que comprende al menos un agente desnaturalizante de priones que es al menos un agente complejante de cobre (II) seleccionado del grupo que consiste en ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), benzotriazol, toliltriazol, ácido trisódico metilglicinacético (Trilon M), ácido 6,6'6"-(1,3,5-triazina-2,4,6-triiltriimino)tris(hexanoico) (Irgacor L190), etanol-2,2'-[[metil-1H-benzotriazol-1-il]metil]imino]bis- (Irgamet 42), y bicarbonato/carbonato de didecildimetilamonio (CarboShield 1000), y al menos subtilisina; y
   (b) exponer la superficie y/o artículo a un medio de esterilización.

4. El método de la reivindicación 3, en donde el medio de esterilización comprende al menos un esterilizante líquido.

5. El método de la reivindicación 4, en donde el esterilizante líquido comprende al menos un ácido peracético, al menos un peróxido, o una mezcla de dos o más de estos.

6. El método de la reivindicación 3, en donde el medio de esterilización comprende al menos un esterilizante gaseoso.

7. El método de la reivindicación 6, en donde el esterilizante gaseoso comprende peróxido de hidrógeno.

8. El método de la reivindicación 7 en donde el esterilizante gaseoso comprende además amoníaco.

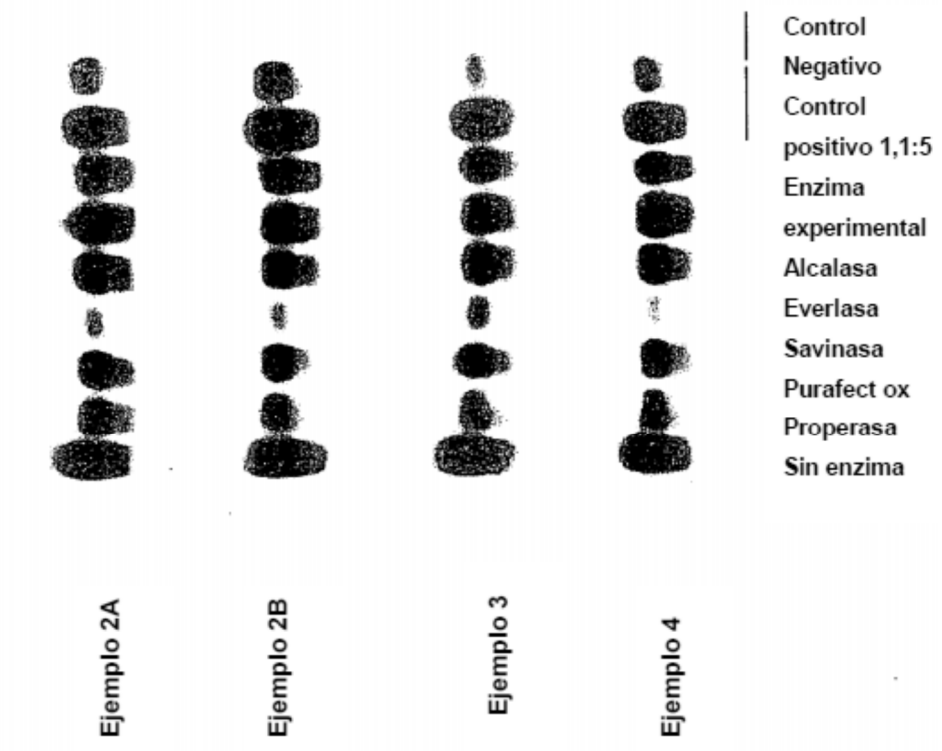

Ejemplo 2A
Ejemplo 2B
Ejemplo 3
Ejemplo 4
Control
Negativo
Control
positivo 1,1:5
Enzima
experimental
Alcalasa
Everlasa
Savinasa
Purafect ox
Properasa
Sin enzima

FIG. 1

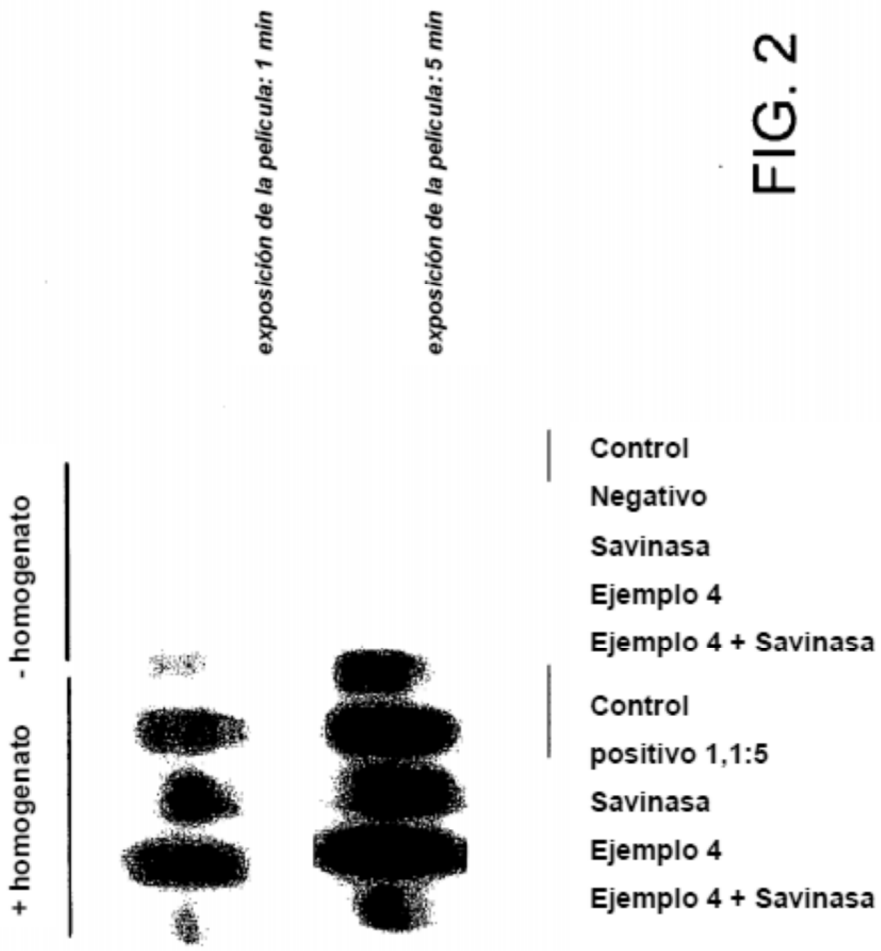

+ homogenato
- homogenato
exposición de la película: 1 min
exposición de la película: 5 min
Control
Negativo
Savinasa
Ejemplo 4
Ejemplo 4 + Savinasa
Control
positivo 1,1:5
Savinasa
Ejemplo 4
Ejemplo 4 + Savinasa

FIG. 2

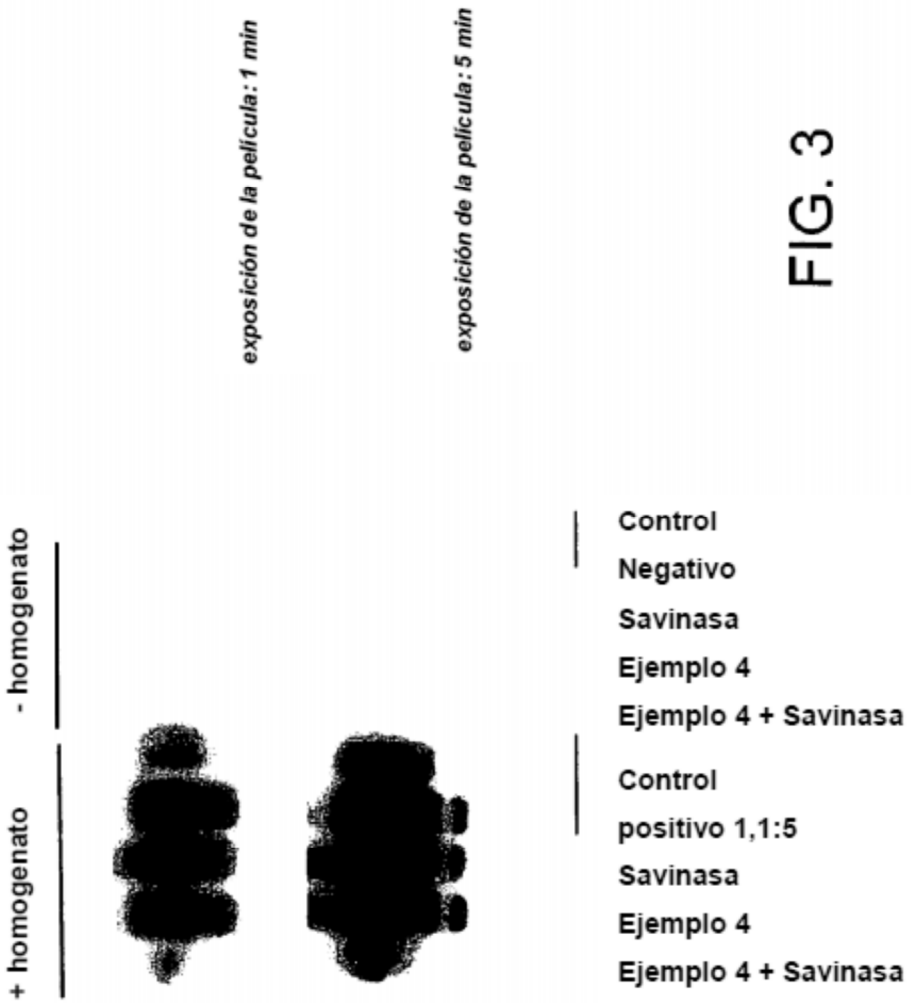

+ homogenato
- homogenato
exposición de la película: 1 min
exposición de la película: 5 min
Control
Negativo
Savinasa
Ejemplo 4
Ejemplo 4 + Savinasa
Control
positivo 1,1:5
Savinasa
Ejemplo 4
Ejemplo 4 + Savinasa

FIG. 3

Ejemplo 4
1.5 ml
0.5 ml
Control Negativo
Control positivo 1,1:5
Sin enzima
Savinasa 16
Savinasa 32
Savinasa 64
Savinasa 16
Savinasa 32
Savinasa 64

FIG. 4

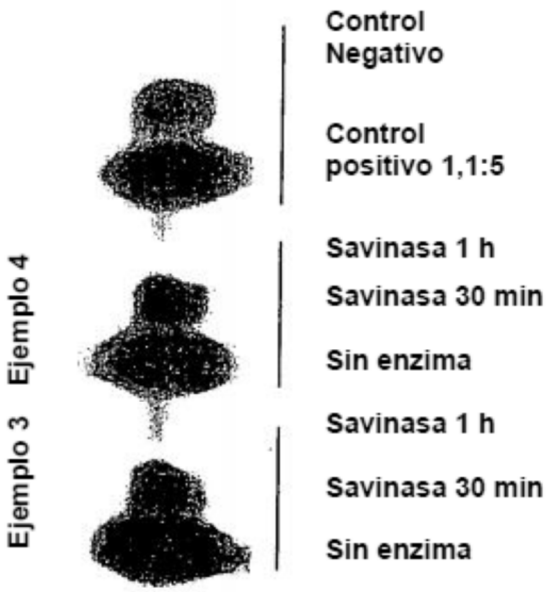
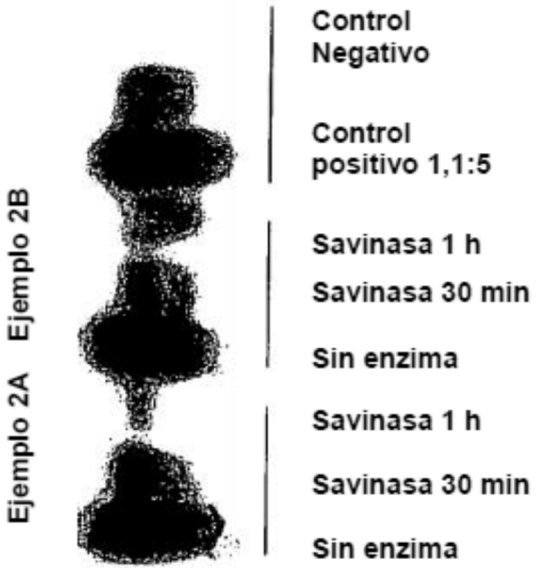

Ejemplo 3
Ejemplo 4
Control Negativo
Control positivo 1,1:5
Savinasa 1 h
Savinasa 30 min
Sin enzima
Savinasa 1 h
Savinasa 30 min
Sin enzima

FIG. 5


Ejemplo 2A
Ejemplo 2B
Control Negativo
Control positivo 1,1:5
Savinasa 1 h
Savinasa 30 min
Sin enzima
Savinasa 1 h
Savinasa 30 min
Sin enzima

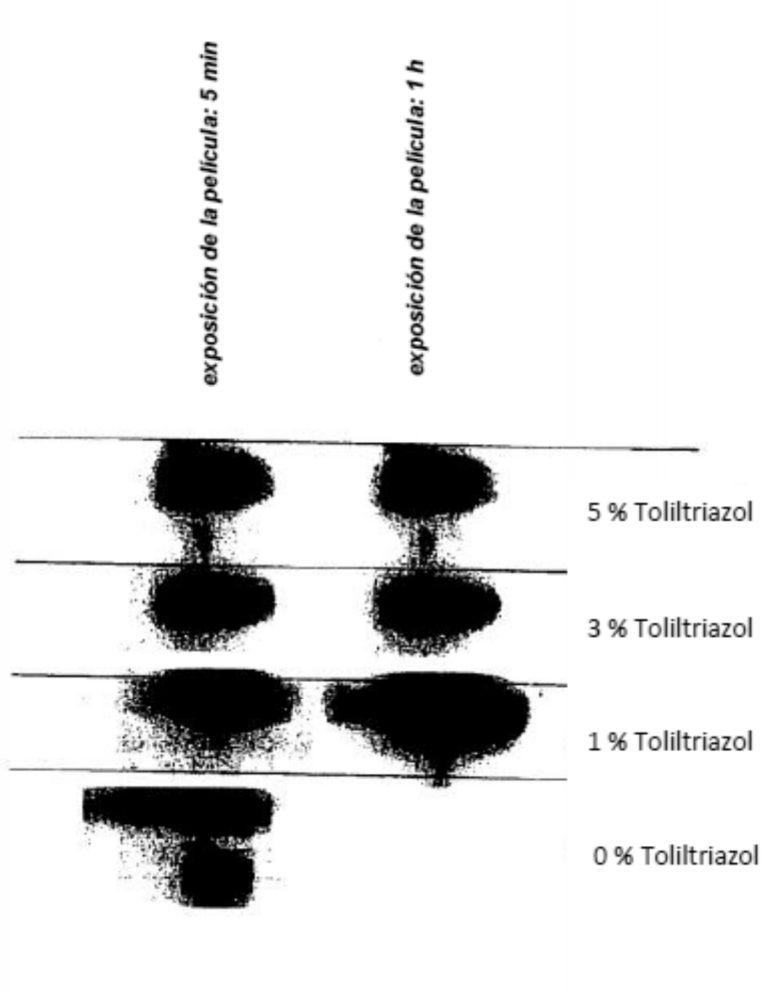

exposición de la película: 5 min
exposición de la película: 1 h
5 % Toliltriazol
3 % Toliltriazol
1 % Toliltriazol
0 % Toliltriazol

FIG. 6

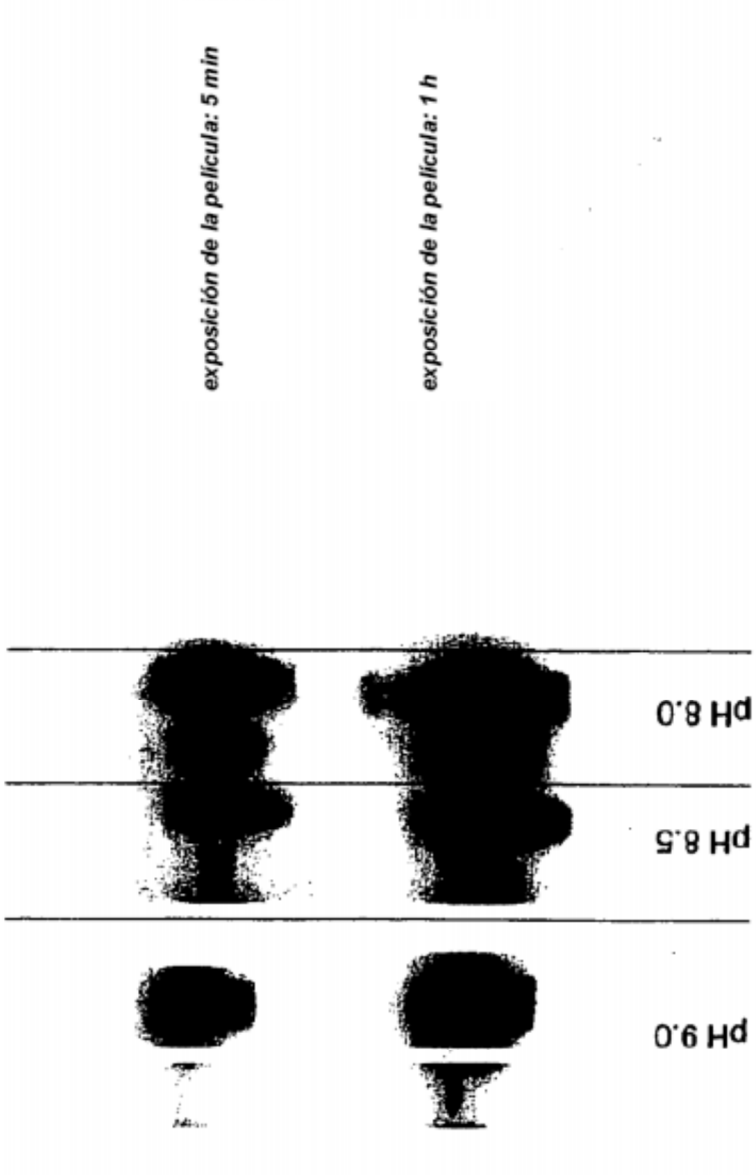

exposición de la película: 5 min
exposición de la película: 1 h
pH 8,0
pH 8,5
pH 9,0

FIG. 7

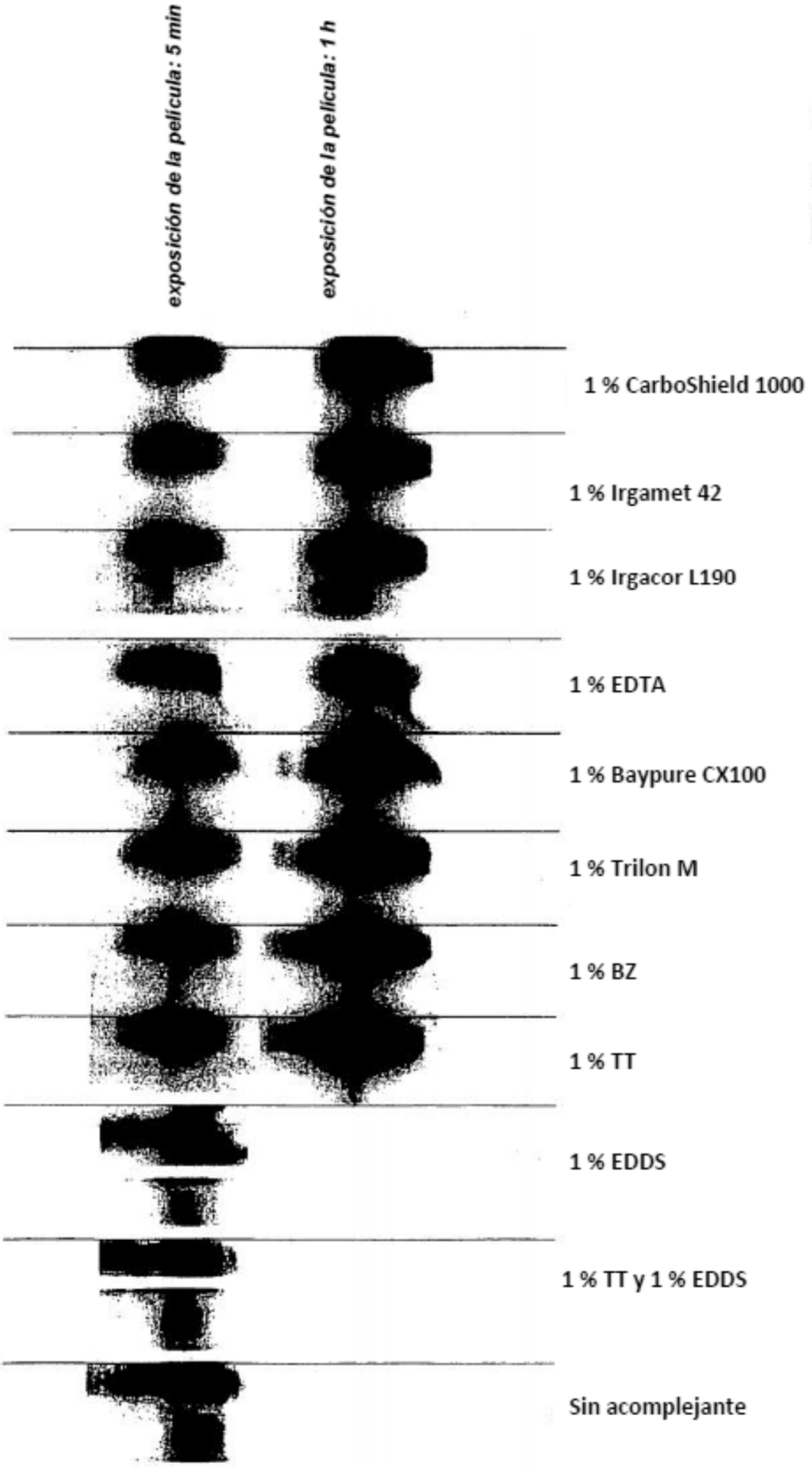

exposición de la película: 5 min
exposición de la película: 1 h
1 % CarboShield 1000
1 % Irgamet 42
1 % Irgacor L190
1 % EDTA
1 % Baypure CX100
1 % Trilon M
1 % BZ
1 % TT
1 % EDDS
1 % TT y 1 % EDDS
Sin acomplejante

FIG. 8

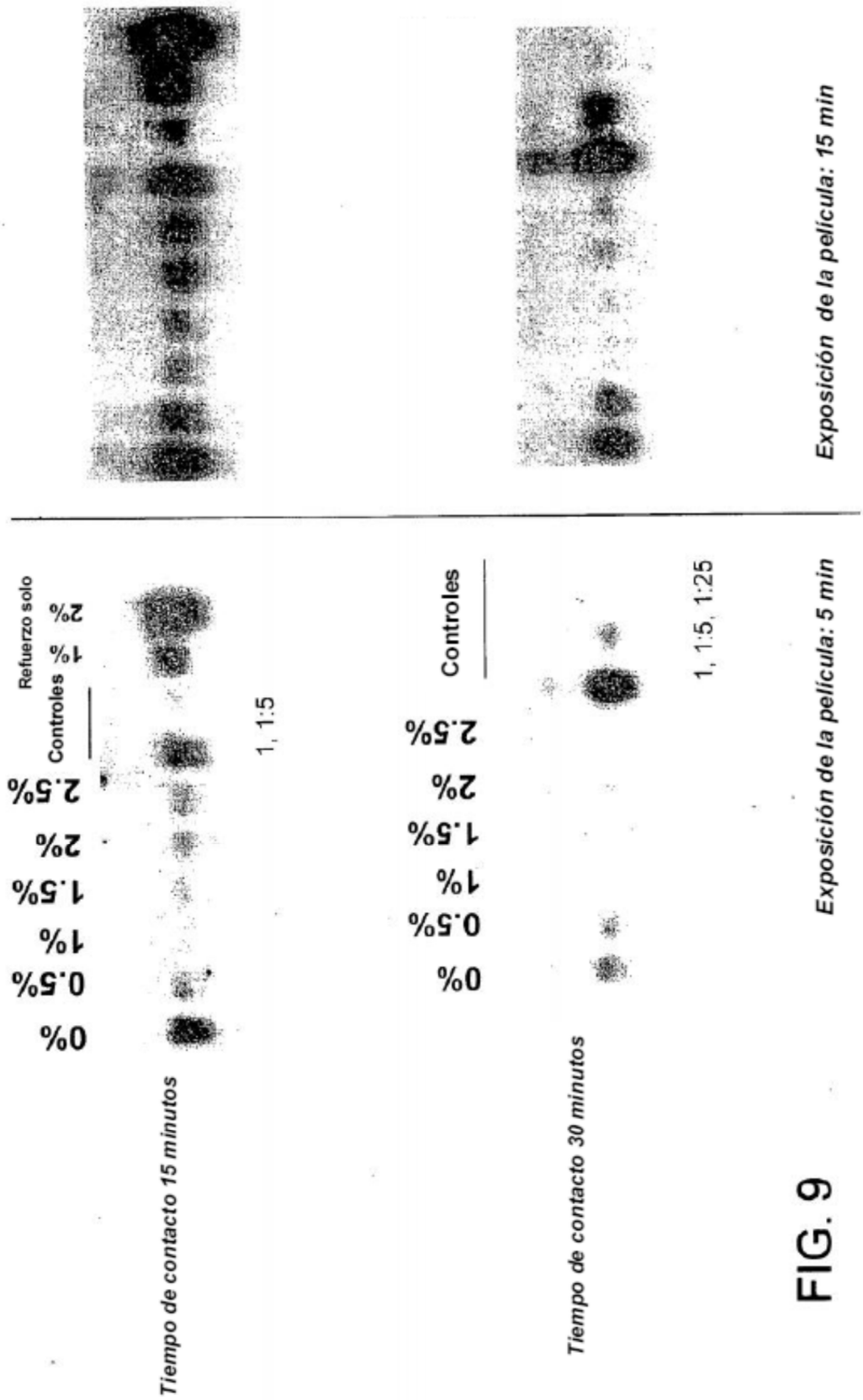

Refuerzo solo
Controles
2%
1%
2.5%
2%
1.5%
1%
0.5%
0%
1, 1:5
Tiempo de contacto 15 minutos
Controles
2.5%
2%
1.5%
1%
0.5%
0%
1, 1:5, 1:25
Tiempo de contacto 30 minutos
Exposición de la película: 5 min
Exposición de la película: 15 min

FIG. 9

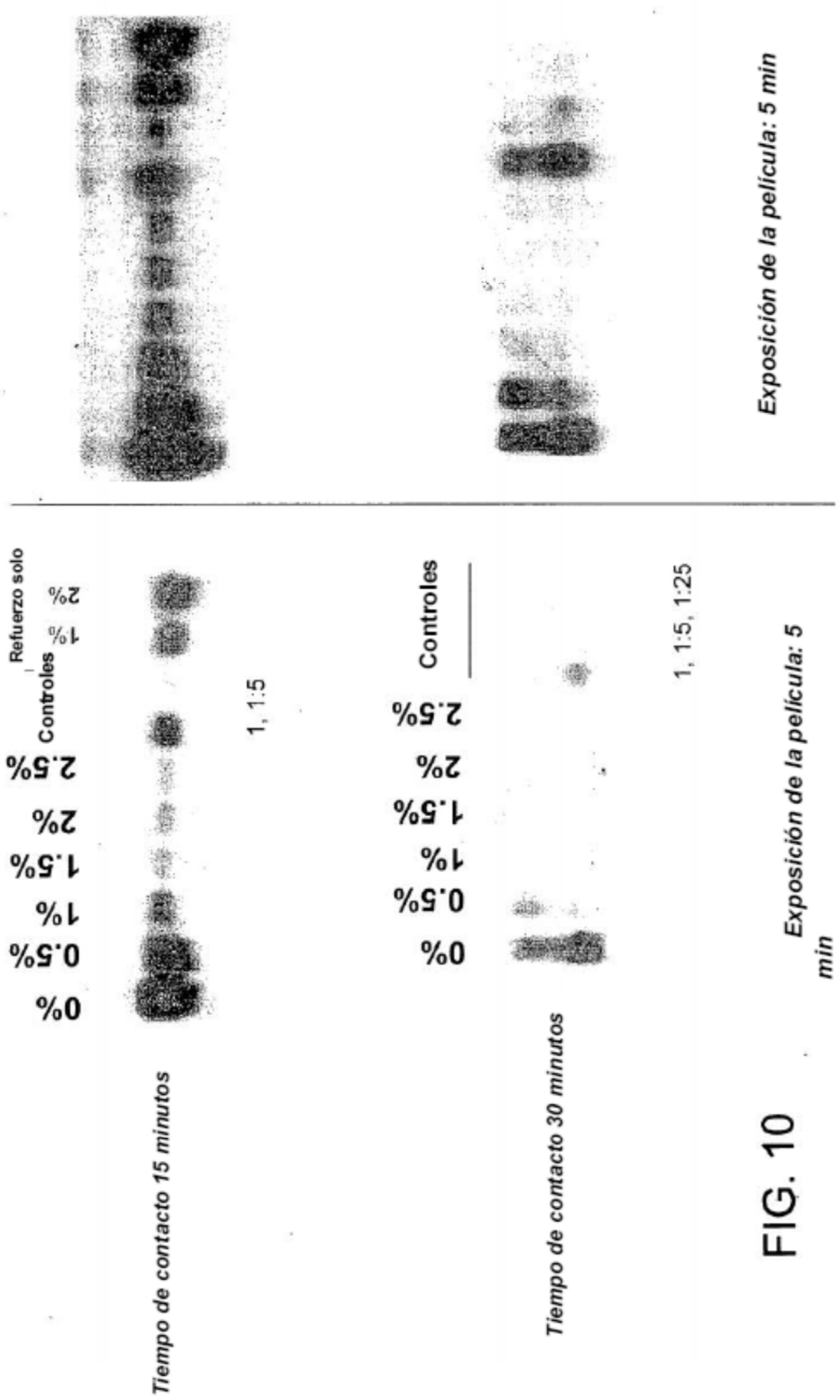

Refuerzo solo
Controles
1%
2%
0%
0.5%
1%
1.5%
2%
2.5%
1, 1:5
Tiempo de contacto 15 minutos
Controles
0%
0.5%
1%
1.5%
2%
2.5%
1, 1:5, 1:25
Tiempo de contacto 30 minutos
Exposición de la película: 5 min
Exposición de la película: 5 min

FIG. 10