

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 622 827**

51 Int. Cl.:

A01N 59/16 (2006.01)

A01N 59/12 (2006.01)

A01N 61/00 (2006.01)

A01N 37/44 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.12.2006 PCT/GB2006/004691**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.06.2007 WO07068938**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2006 E 06820530 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.03.2017 EP 1959739**

54 Título: **Composición antimicrobiana**

30 Prioridad:

14.12.2005 GB 0525504

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

07.07.2017

73 Titular/es:

**CONVATEC TECHNOLOGIES INC. (100.0%)
3993 Howard Hughes Parkway Suite 250
Las Vegas, NV 89169-6754, US**

72 Inventor/es:

**PERCIVAL, STEVEN, L.;
BOWLER, PHILLIP, G. y
PARSONS, DAVID**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 622 827 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 antimicrobiana

- 5 Esta invención se refiere a una composición antimicrobiana que se puede aplicar a la piel, heridas, cortes, abrasiones o quemaduras para la prevención o tratamiento de infecciones. Más particularmente, la invención se refiere a una composición capaz de proporcionar una actividad antimicrobiana eficaz al mismo tiempo que evita la irritación de la herida y la piel y el retraso de la cicatrización de la herida.
- El uso excesivo de antibióticos y el aumento asociado de la resistencia bacteriana está afectando la eficacia de los antibióticos en el tratamiento de la infección de la herida. De este modo, son deseables alternativas eficaces a los antibióticos.
- 10 Los materiales antimicrobianos tópicos y las preparaciones que los contienen han sido reconocidos durante mucho tiempo como jugando un papel importante en la minimización de la oportunidad de infecciones de la piel y de las heridas. Los antisépticos son agentes químicos no selectivos que pueden ser seguros de usar en tejidos vivos. El yodo molecular, la plata iónica y los agentes oxidantes tales como el hipoclorito de sodio y el dióxido de cloro han sido reconocidos como agentes antisépticos con eficacia contra una amplia gama de microorganismos. Hay sin embargo varias barreras para hacer una composición antimicrobiana eficaz para la aplicación a heridas basadas en tales agentes. Un problema es que estos agentes antisépticos tienden a reaccionar con materiales orgánicos encontrados en la herida distintos de los objetivos microbianos previstos. Esto significa que, para ser eficaces, los agentes antisépticos deben incluirse en composiciones de tratamiento a altos niveles, lo que puede causar efectos secundarios indeseables con uso prolongado, tales como toxicidad celular, reacciones de hipersensibilidad, tinción de la piel y efectos sistémicos. Tales efectos secundarios se describen adicionalmente en "In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care". Poon VK, Burd A. Burns. 2004 Mar;30(2):140-7, "A review of iodine toxicity reports". Pennington JA. J Am Diet Assoc. 1990 Nov;90(11):1571-81 y "Topical antimicrobial toxicity". Lineaweaver W, Howard R, Soucy D, McMorris S, Freeman J, Crain C, Robertson J, Rumley T. Arch Surg. 1985 Mar;120(3):267-70.
- 15 Las heridas son a menudo colonizadas por una variedad de microorganismos, algunos de los cuales pueden causar infección. Se reconoce cada vez más que las poblaciones microbianas que viven en un entorno de biopelícula contribuyen a la curación retardada y la infección. Las biopelículas se componen de sustancias exopoliméricas que son producidas por las bacterias una vez que se adhieren a una superficie, y esto ayuda a proteger los microorganismos de las células inmunes y los agentes antimicrobianos. Dado que la eficacia de los agentes antimicrobianos (por ejemplo, antibióticos y antisépticos) se ve comprometida por la matriz de biopelícula, las estrategias para deteriorar la biopelícula y exponer a los microorganismos dentro pueden ser útiles para aumentar el nivel de actividad de los agentes antimicrobianos y de este modo reducir la concentración de tales agentes necesarios para hacer una composición eficaz.
- 20 Se ha utilizado ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) añadido como las sales disódicas o disódicas de calcio para tratar infecciones tópicas o para tratar superficies duras tales como catéteres. WO03/047341 describe el uso de EDTA, por ejemplo, como un aditivo para una pasta dentífrica. EDTA también se utiliza como un agente de formulación para reducir los efectos de la dureza del agua y generalmente como un agente quelante.
- 25 El EDTA se ha descrito en combinación con otros agentes antibióticos, por ejemplo, en US 5998488, se utiliza en combinación con un conservante antimicrobiano en una solución para uso oftálmico. No se han propuesto formulaciones apropiadas para uso tópico sobre heridas.
- 30 La WO2004028461 describe soluciones antisépticas, que comprenden iones de plata, EDTA, policetato y soluciones reguladoras.
- De este modo, existe la necesidad de una composición que tenga las ventajas de un agente antimicrobiano pero que reduzca el potencial de reacciones adversas.
- 35 Sorprendentemente, se ha encontrado que EDTA es capaz de deteriorar biopelículas por quelación de los iones metálicos, calcio y magnesio, que mantienen la integridad de la matriz de biopelícula.
- De acuerdo con lo anterior, un primer aspecto de la invención proporciona una composición antimicrobiana apropiada para su uso sobre la piel y heridas que comprenden una fuente de antiséptico, que es plata iónica, y un agente que deteriora las biopelículas que es EDTA.
- 40 La presencia de EDTA mejora el efecto del antiséptico de tal manera que la concentración de agente antiséptico, que es plata iónica, se puede reducir y aun así conseguir una antisepsia eficaz. Mediante el aumento de la eficacia del agente antiséptico, su concentración en la composición se puede reducir reduciendo así el potencial de reacciones adversas.
- 45
- 50

Este aspecto de la invención permite la preparación de composiciones capaces de reducir la biocarga bacteriana a un nivel manejable por el huésped en 24 horas utilizando al menos un 50% menos del agente antiséptico, más preferiblemente 50-60% menos e idealmente 65-85% menos. Esto permite entonces que la herida progrese hacia la curación y puede ser evidenciada por una mejora visual en la herida.

- 5 También se ha encontrado que es posible preparar una composición que incluye EDTA que es eficaz en las condiciones de pH normalmente encontradas en una herida.

De acuerdo con lo anterior, un segundo aspecto de la invención proporciona una composición apropiada para uso en heridas que comprenden sales di-, tri- y tetra-básicas de EDTA a un pH de 4 a 6.

Las composiciones de acuerdo con la invención comprenden un agente antiséptico, que es plata iónica.

- 10 El agente antiséptico que es plata iónica está incluido en la composición a un nivel desde 0.1% a 10% en peso y preferiblemente de 0.5% a 1.5%.

El pH de la composición está entre 4 y 6 y preferiblemente entre 4.5 y 5.5. El pH deseado se alcanza incorporando agentes reguladores en la composición. Ejemplos de agentes reguladores que se pueden incluir son ácido cítrico/fosfato de hidrógeno di-sódico, ácido cítrico/citrato de sodio, ácido acético/acetato de sodio. El agente regulador puede estar presente convenientemente en una cantidad de aproximadamente 1% a 20% en peso de la composición preferiblemente de aproximadamente 4% a 6% en peso y particularmente aproximadamente 5% en peso con el fin de proporcionar una composición isotónica

- 15 El EDTA está preferiblemente presente como las sales di-, tri- o tetra-básicas de EDTA. Se ha encontrado que estas sales son eficaces para erradicar microorganismos en el estado libre flotante o planctónico y estado de biopelícula solo o en presencia de un agente antiséptico. Por ejemplo, se ha encontrado que el EDTA en concentraciones de 0.1-40% en peso por volumen era eficaz para matar una gama de microorganismos tanto en el estado planctónico como en el de biopelícula. Los microorganismos que fueron efectivamente eliminados por EDTA incluyeron *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, Enterococcus resistente a la vancomicina (VRE) y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA).

- 20 El EDTA está presente en las composiciones de la presente invención a un nivel de 0.5% a 10% en peso de la composición, preferiblemente de 1% a 3% en peso.

Las composiciones de la presente invención pueden estar en forma de un gel a base de agua que mantiene un entorno de cicatrización de heridas húmedo y promueve la cicatrización. Un gel da la ventaja de flujo en la herida para formar un contacto íntimo con el lecho de la herida y proporcionar efectos antimicrobianos a toda la herida. Preferiblemente, el gel tiene una viscosidad suficientemente alta que no fluye de heridas en zonas del cuerpo que son o se vuelven no horizontales. Preferiblemente, el pH del gel se estandarizó a alrededor de 5.5, ya que este no altera el equilibrio del pH del tejido de peri herida y por lo tanto lo protege.

- 25 Los siguientes ejemplos en parte son ilustrativos de la presente invención.

Ejemplo 1

- 35 (Ejemplo comparativo, que no forma parte de la invención)

Efecto del EDTA en el yodo

Las composiciones que contienen yodo y EDTA se prepararon haciendo un par de geles acuosos que se mezclaron íntimamente en el punto de uso. Cada gel se fabricó preparando una solución acuosa que contiene todas las partes solubles en agua apropiadas de acuerdo con las formulaciones a continuación y adicionando luego una suspensión de un viscosímero celulósico no iónico (hidroxietilcelulosa) en propilenglicol.

- 40

Gel A

Componente	% p/p
Agua	Hasta 100
Propan-1,2-diol	10
Hidroxietilcelulosa	3.86
Yodato de sodio	0.16

ES 2 622 827 T3

Ácido cítrico	3.99
Fosfato di-sódico	15.06

Gel B

Componente	% p/p
Agua	Hasta 100
Propan-1,2-diol	10
Hidroxietilcelulosa	4.14
Yodato de sodio	0.59
Sal tetra-sódica del ácido etilendiaminotetraacético tetrahidratado	0.1-4.0
Ácido fosfórico	Según sea necesario para ajustar la fase acuosa a pH 5.5

- 5 Un ungüento de yoduro de cadexómero comercialmente disponible estaba presente como control positivo, ya que contiene 0.9% de yodo. Intrasite es un hidrogel amorfo y estaba presente como un control negativo ya que contiene 0% de yodo.

Método

- 10 Se adicionaron 9 mL de fluido de herida simulado a un pozo de células de 17 mL de volumen. Se adicionó un cultivo de 1 mL de *Staphylococcus aureus* a cada pozo para dar una concentración final de cultivo de 10^6 ufc/mL. Los controles para este experimento implicaron la adición de 2 g de ungüento de yodo de cadexomor (control positivo) e hidrogel (control negativo) separadamente a tres pozos de células cada uno. A continuación, se adicionaron 1 g de geles A y B, con diferentes concentraciones de EDTA, a pozos de células separados (por triplicado). Los pozos de células que contenían el cultivo y los geles se agitaron entonces a 600 rpm a 35°C. Después de intervalos de tiempo de 4, 24, 48, 72 y 96 horas, se tomó una muestra de ensayo de 0.1 mL de cada pozo y se colocó en 9.9 mL de MRD (diluyente de recuperación máximo) que contiene tiosulfato de sodio al 1%. A continuación, se transfirió una muestra de 1 mL a placas de agar Tryptone Soy y se incubó durante 48 horas. A continuación, se registraron los recuentos bacterianos.

Resultados

Composición del ensayo	4 horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Iodosorb (control positivo)	10	10	10	10	10
Intrasite (control negativo)	7600000	310000000	530000000	1000000000	14000000
0% de I ₂ 0% de EDTA Datos de confirmación?	7600000	310000000	530000000	1000000000	14000000
0.3% de I ₂ 0% de EDTA	1240000	1000000	1000000	1000000	10000000
0.3% de I ₂ 0% de EDTA	1010000	1000000	1000000	1000000	10000000
0.3% de I ₂ 0% de EDTA	1670000	1000000	1000000	1000000	10000000
0.3% de I ₂ 0.5% de EDTA	1500000	1000000	1000000	1000000	1000000

ES 2 622 827 T3

0.3% de I ₂ 0.5% de EDTA	92000	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 0.5% de EDTA	58000	10	10	10	10
Composición del ensayo	4 horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0.3% de I ₂ 1% de EDTA	8100	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 1% de EDTA	130000	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 1% de EDTA	110000	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 1.75% de EDTA	710	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 1.75% de EDTA	4400	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 1.75% de EDTA	31000	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 2.5% de EDTA	8500	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 2.5% de EDTA	10600	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 2.5% de EDTA	6200	16000	10	10	10
0.3% de I ₂ 4% de EDTA	93000	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 4% de EDTA	8500	10	10	10	10
0.3% de I ₂ 4% de EDTA		1400	10	10	10

Estos resultados se muestran gráficamente en la figura 1.

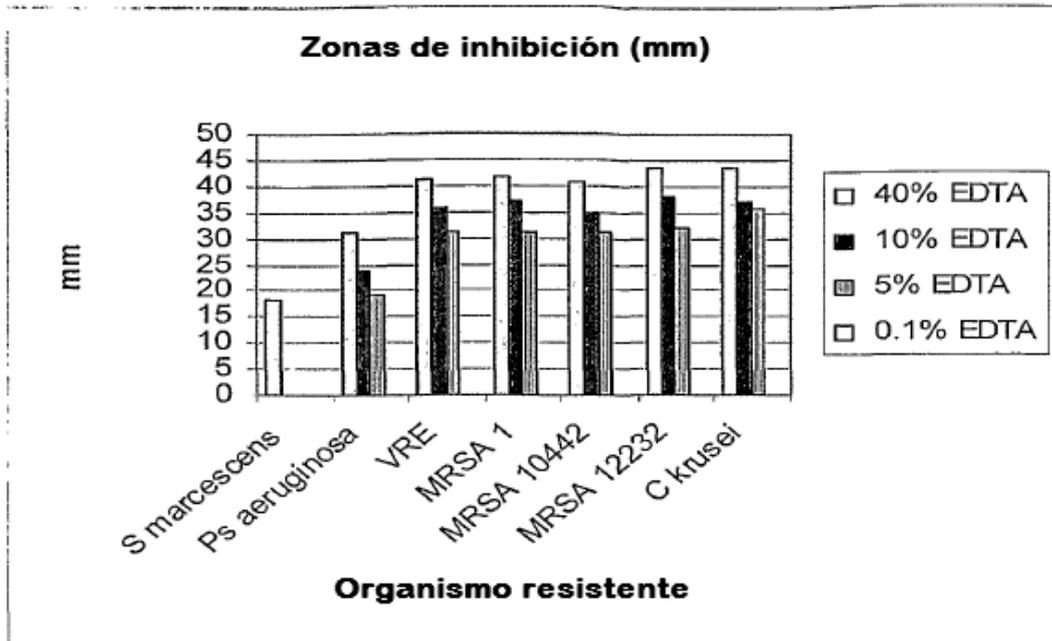
- 5 Estos resultados muestran que al adicionar tan solo el 0.5% de EDTA (calculado como la sal disódica) al yodo, la eficacia del yodo, al 0.3%, se mejora si se compara con el control de yodo al 0.3% sin EDTA. Claramente, a partir de los resultados el EDTA mejora los efectos del yodo en 24 horas a la misma eficacia del 0.9% de yodo (control positivo).

Ejemplo 2

(Ejemplo comparativo, que no forma parte de la invención)

Zonas de inhibición con EDTA tetrasódico

- 10 Se utilizaron siete microorganismos resistentes a antibióticos para evaluar la eficacia de EDTA en bacterias mortíferas y levaduras cultivadas en agar. Para este experimento, los discos de papel de filtro se remojaron en EDTA en concentraciones que oscilaban entre 0.1 y 40%. El EDTA se fabricó disolviéndolo en una cantidad apropiada de agua estéril doble destilada. A continuación, se adicionaron los filtros sobre agar Muller Hinton que había sido inoculado con un microorganismo bajo estudio durante 24 horas a 35°C. Todos los microorganismos se ensayaron dos veces.
- 15



Estos resultados muestran que las "zonas de inhibición" oscilaban entre 20 y 43 mm (incluyendo el disco 13 mm). Las zonas fueron más altas con niveles crecientes de EDTA indicando que el EDTA solo es un agente antiséptico eficaz.

5 Ejemplo 3

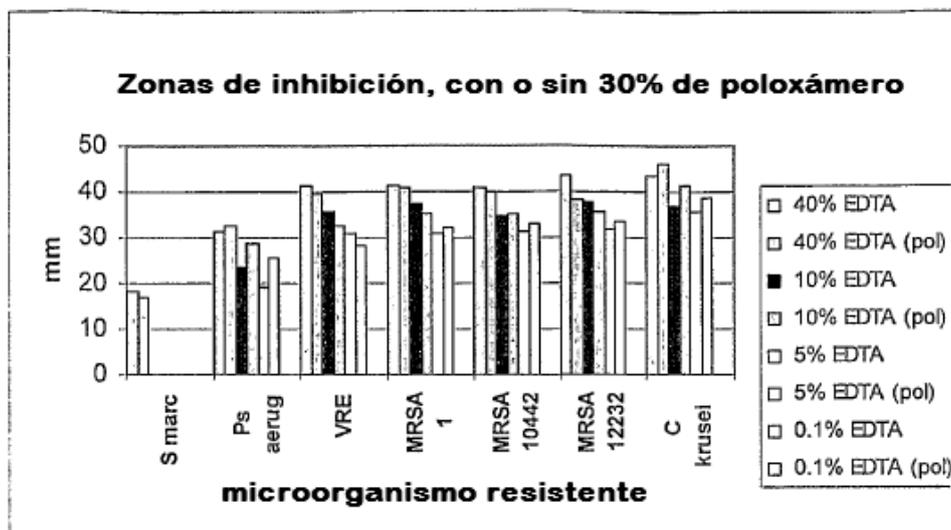
(Ejemplo comparativo, que no forma parte de la invención)

Zonas de inhibición con EDTA

10 Los hidrogeles poloxámero F127 (Univar, Basildon, Essex, UK) son copolímeros de dibloques de polioxietileno y polioxipropileno que demuestran propiedades de gelificación termoreversibles. A temperaturas inferiores a 15°C, el poloxámero es líquido y completamente miscible con agua, pero cambia a un gel firme a temperaturas superiores a 15°C. El poloxámero estimula a las bacterias a exhibir un fenotipo de biopelícula más relevante clínicamente. Gilbert et al., Determinaron que las células de *P. aeruginosa* cultivadas en hidrogel de poloxámero (forma de biopelícula) expresan proteínas de membrana externa entre 78 y 87 kDa, que no son evidentes en células cultivadas en agar nutritivo estándar ("planctónico") (Gilbert et al., 1998). En consecuencia, los cultivos de gel de poloxámero imitan muchas de las propiedades de *P. aeruginosa* cultivada en biopelícula (Gilbert et al., 1998). Esto indica que existe una diferencia fenotípica entre las células de *P. aeruginosa* cultivadas en el hidrogel de poloxámero y el agar nutritivo, con sólo células cultivadas con poloxámero parecidas a las células de biopelícula. Se encontró a partir del estudio de Wirtanen (1998) que las bacterias que se cultivan en poloxámero tienen propiedades de biopelícula y resistencia al biocida mejorada asociada. Gilbert y sus colegas sugirieron que las bacterias crecidas en hidrogeles de poloxámero podrían ser expuestas a biocidas para proporcionar un método reproducible para probar la eficacia antimicrobiana de biocidas contra las bacterias de biopelícula (Gilbert et al., 1998).

25 Gilbert P, Jones MV, Allison DG, Heys S, Maira T, Wood P. The use of poloxamer hydrogels for the assessment of biofilm susceptibility towards biocide treatments. *Journal of Applied Microbiology* 1998;85:985-990. Wirtanen G, Salo S, Allison DG, Mattila-Sandholm T, Gilbert P. Performance evaluation of disinfectant formulations using poloxamerhydrogel biofilm-constructs. *Journal of Applied Microbiology* 1998; 85:965-971.

30 Se utilizaron siete microorganismos resistentes a antibióticos para evaluar la eficacia de EDTA matando las bacterias y levaduras cultivadas en gel de poloxámero (estado de biopelícula). Para este experimento, los discos de papel de filtro se remojaron en EDTA en concentraciones que oscilaban entre 0.1 y 40%. En este estudio, se utilizó poloxámero F127, un copolímero de dibloque de polioxietileno y polioxipropileno, como medio sobre el cual las bacterias podrían crecer como un fenotipo de biopelícula y expresar las características más apropiadas para el "mundo real". A continuación, se adicionaron los filtros sobre agar Muller Hinton que había sido inoculado con el microorganismo estudiado durante 24 horas a 35°C. Todas las placas se hicieron por duplicado.



Estos resultados muestran que las zonas de inhibición eran ligeramente menores en presencia de poloxámero indicando que las bacterias/levaduras que crecen como biopelículas son físicamente más resistentes a EDTA cuando se comparan con sus contrapartes planctónicas. *C. krusei* y *Ps. aeruginosa* fueron la excepción con zonas más grandes con poloxámero. Las zonas de inhibición eran evidentes en todos los organismos ensayados con 40% de EDTA. A 10% y 5% de EDTA no había zonas con *Serratia marcescens*. A 0.1% de EDTA no se observaron zonas de inhibición con ningún organismo estudiado que indicara que el EDTA no es eficaz a este nivel.

Ejemplo 4

(Ejemplo comparativo, que no forma parte de la invención)

- 10 Concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) y concentraciones bactericidas mínimas (MBC) con sales tetra, tri y di básicas de EDTA

Método: Se realizaron una placa de microtitulación y lecturas de densidad óptica e inspección visual para obtener las MIC para una variedad de microorganismos (véase la figura 2). Las concentraciones de EDTA incluidas en este estudio fueron 40 mg/mL pH 10.00 como tetra-Na, 40 mg/mL como tri-Na pH 6.84, 40 mg/mL como di-Na pH 5.50.

- 15 En cada placa de microtitulación, se adicionaron 100 μ L de inóculo y EDTA. A continuación, la placa se incubó durante 24 horas a 35°C \pm 3°C. Después de la incubación, todas las placas de microtitulación se inspeccionaron visualmente para su crecimiento.

Los resultados se presentan en la figura 2.

- 20 En general, todas las MIC registradas fueron equivalentes para todas las sales de EDTA estudiadas. Esto sugiere que el pH de ambas soluciones es equivalente. Por lo tanto, la actividad de EDTA no se ve afectada por la forma de sal añadida a la placa de microtitulación. Estos resultados muestran que las bajas concentraciones de EDTA son muy eficaces en bacterias.

Ejemplo 5

El efecto del EDTA sobre la eficacia antimicrobiana de los apósitos para heridas que contienen plata

- 25 Los apósitos antimicrobianos utilizados en este estudio fueron Acticoat™ (Smith and Nephew) y AQUACEL® Ag Hydrofiber® (ConvaTec). Acticoat™ es un apósito de barrera antimicrobiana de plata nanocrystalina que consiste en un núcleo interno no tejido de rayón/poliéster laminado entre dos capas de malla de polietileno de alta densidad recubierta de plata (HDPE). Las capas se mantienen juntas con soldaduras por ultrasonidos. AQUACEL® Ag se compone de carboximetilcelulosa de sodio Hydrofiber® y plata iónica. Los cationes de plata en AQUACEL® Ag se asocian con las fibras de carboximetilcelulosa aniónicas altamente absorbentes individuales del apósito Hydrofiber®.
- 30 El apósito AQUACEL® Hydrofiber® (sin plata) también se utilizó como control.

Método: Se hidrataron todos los apósitos (AQUACEL Hydrofiber [control-sin plata], AQUACEL Ag Hydrofiber y Acticoat (apósito nanocrystalino) con 20 mg/mL de EDTA tetra-Na. Todos los ensayos se realizaron contra *Ps. aeruginosa* y se probaron en agar Mueller Hinton (MHA) y gel poloxámero (incorporando caldo Mueller Hinton

(MHB). Este implicó la inoculación de ya sea una placa de agar MH o una placa de gel poloxámero con un aislado específico y luego añadir un adecuado apósito hidratado (a punto de saturación) (360 \square 1 MRD) para AQUACEL y AQUACEL Ag y 150 \square 1 (agua destilada estéril según las instrucciones del fabricante) para Acticoat). A continuación, las placas se incubaron a 35°C \pm 3°C durante 24 horas, después de lo cual se midió la zona de liberación (sin crecimiento) alrededor del apósito. Se midieron las zonas de inhibición horizontal y verticalmente (incluida la muestra de apósito) y se calculó un valor medio a partir del conjunto de resultados duplicados. Se restó entonces el tamaño medio del apósito de la zona media de inhibición para determinar la zona corregida de inhibición (CZOI). Una prueba de CZOI permite cualquier variabilidad inherente en la forma y el tamaño de las zonas creadas por los apósitos de plata que pueden cambiar en dimensión tras la hidratación.

10 Tabla para mostrar el tamaño de la zona corregida de inhibición (CZOI) en mm en agar MH y gel de poloxámero

Fluido hidratante	MHA (bacteria no-biopelícula)			Poloxámero gel con MHB (bacteria biopelícula)		
	AQUACEL	AQUACEL Ag	Acticoat	AQUACEL	AQUACEL Ag	Acticoat
EDTA	0	16	10	6	6	7
MRD	0	18	N/A	0	3	N/A
Agua	N/D	N/D	7	N/D	N/D	3

15 Conclusión: Cuando se adicionó EDTA a AQUACEL, no se observaron zonas de inhibición en MHA (estado no biopelícula). Sin embargo, se observaron ZOI alrededor de AQUACEL Ag sobre MHA (bacteria no biopelícula) cuando se adicionó EDTA o MRD (diluyente de recuperación máximo) indicando la actividad antimicrobiana de la plata. ZOI más grandes se observaron alrededor de Acticoat después de la adición de EDTA en comparación con la hidratación con agua. En presencia de gel de poloxámero se observó un aumento en la CZOI después de la hidratación de AQUACEL Ag con MRD cuando se comparó con EDTA indicando un efecto aditivo con el uso de EDTA. En general, los resultados mostraron que EDTA mejora los efectos de la plata iónica en las bacterias crecidas en el estado de biopelícula (gel de poloxámero). En general, estos resultados sugieren que mediante el uso de un apósito con EDTA es eficaz contra ambos microorganismos planctónicos y biopelícula porque AQUACEL solo no es eficaz cuando los microorganismos están en el estado planctónico.

20 Tabla para mostrar el tamaño de la zona corregida de inhibición en mm en agar MH y gel de poloxámero

Fluido hidratante	MHA (bacteria no-biopelícula)			Poloxámero gel con MHB (bacteria biopelícula)		
	AQUACEL	AQUACEL Ag	Apósito de plata nanocrystalino	AQUACEL	AQUACEL Ag	Apósito de plata nanocrystalino
EDTA	0	15.99	9.57	6.28	5.96	6.73
MRD	0	18.04	N/A	0	3.42	N/A
Agua	N/A	N/A	6.74	N/A	N/A	2.82

Ejemplo 6

25 (Ejemplo comparativo, que no forma parte de la invención)

Concentraciones inhibitoras mínimas (MIC) para un gel de dos componentes que comprende yodo y un gel de dos componentes como se detalla en el ejemplo 1 que contiene EDTA (EDTA diNa, EDTA triNa y EDTA tetraNa)

Este experimento muestra el efecto del pH sobre la actividad de una gama de formas de EDTA.

30 Para este experimento se fabricó un gel de dos componentes como se detalla en el ejemplo 1, sin el componente HEC (gel). Por lo tanto, este experimento se realizó utilizando sólo composiciones líquidas con el fin de calcular las MIC. El pH de las soluciones de TCG/EDTA fue de aproximadamente 5.5. Los organismos examinados incluyeron: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* (repetido dos veces) y *C albicans*.

Solución TCG (A)

ES 2 622 827 T3

Componente	% p/p
Agua	Hasta 100
Yodato de sodio	0.1
Ácido cítrico	3.99
Fosfato di-sódico	15.06

Solución TCG (B)

Componente	% p/p
Agua	Hasta 100
Yoduro de sodio	0.4
Sal tetra-sódica del ácido etilendiaminotetraacético tetrahidratado	Como se muestra en la Tabla 1
Ácido fosfórico	Según sea necesario para ajustar la fase acuosa a pH 5.5

- 5 Las MIC para la solución de TCG y la solución de TCG combinadas con EDTA (valores entre paréntesis son concentraciones de EDTA en mg/mL)

Bacteria	Solución TCG*	EDTA TCG	TCG & EDTA tri Na	TCG & EDTA tetra Na
<i>S aureus</i>	0.25 (0)	0.008 (0.31)	0.008 (0.31)	0.008 (0.31)
<i>Ps aeruginosa</i>	0.5 (0)	0.062 (2.5)	0.062 (2.5)	0.062 (2.5)
<i>E coli</i>	0.25 (0)	0.031 (1.25)	0.031 (1.25)	0.031 (1.25)
* (La concentración de trabajo fue 0.2% de yodo)				

Conclusión

Las CIM se redujeron considerablemente en presencia de EDTA (di, tri y tetra Na). Se puede observar que las MIC, expresadas como concentración de yodo, son menores en presencia de EDTA di, tri y tetra sódico.

- 10 El beneficio antimicrobiano de tener presente EDTA se alcanza a concentraciones de 0.31 mg/mL. A pesar de que se sabe que diferentes formas de EDTA proporcionan eficacia antimicrobiana diferencial, a un pH constante (5.5 en este caso) todas las formas de EDTA eran igualmente eficaces para reducir significativamente las MIC para todos los tres organismos en comparación con la solución generadora de yodo sin EDTA.

Reivindicaciones

- 5 1. Una composición antiséptica apropiada para uso sobre la piel y heridas que comprende desde 0.1% a 10% en peso de una fuente de un agente antimicrobiano que es plata iónica, un agente regulador y 0.5 a 10% en peso de EDTA como agente que deteriora las biopelículas, donde el agente regulador mantiene dicha composición a un pH deseado de entre 4 y 6.
2. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, caracterizada porque la composición tiene un pH de entre 4.5 y 5.5.
3. Una composición como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en forma de un gel.
- 10 4. Una composición como se reivindica en las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque la composición comprende desde 0.5% a 1.5% en peso de plata iónica.
5. Uso de una composición antiséptica en la fabricación de un medicamento que comprende una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para uso en el tratamiento de heridas crónicas y quemaduras.

Figura 1
 Actividad antimicrobiana de una solución generadora de yodo de dos componentes con y sin EDTA contra *Staphylococcus aureus*

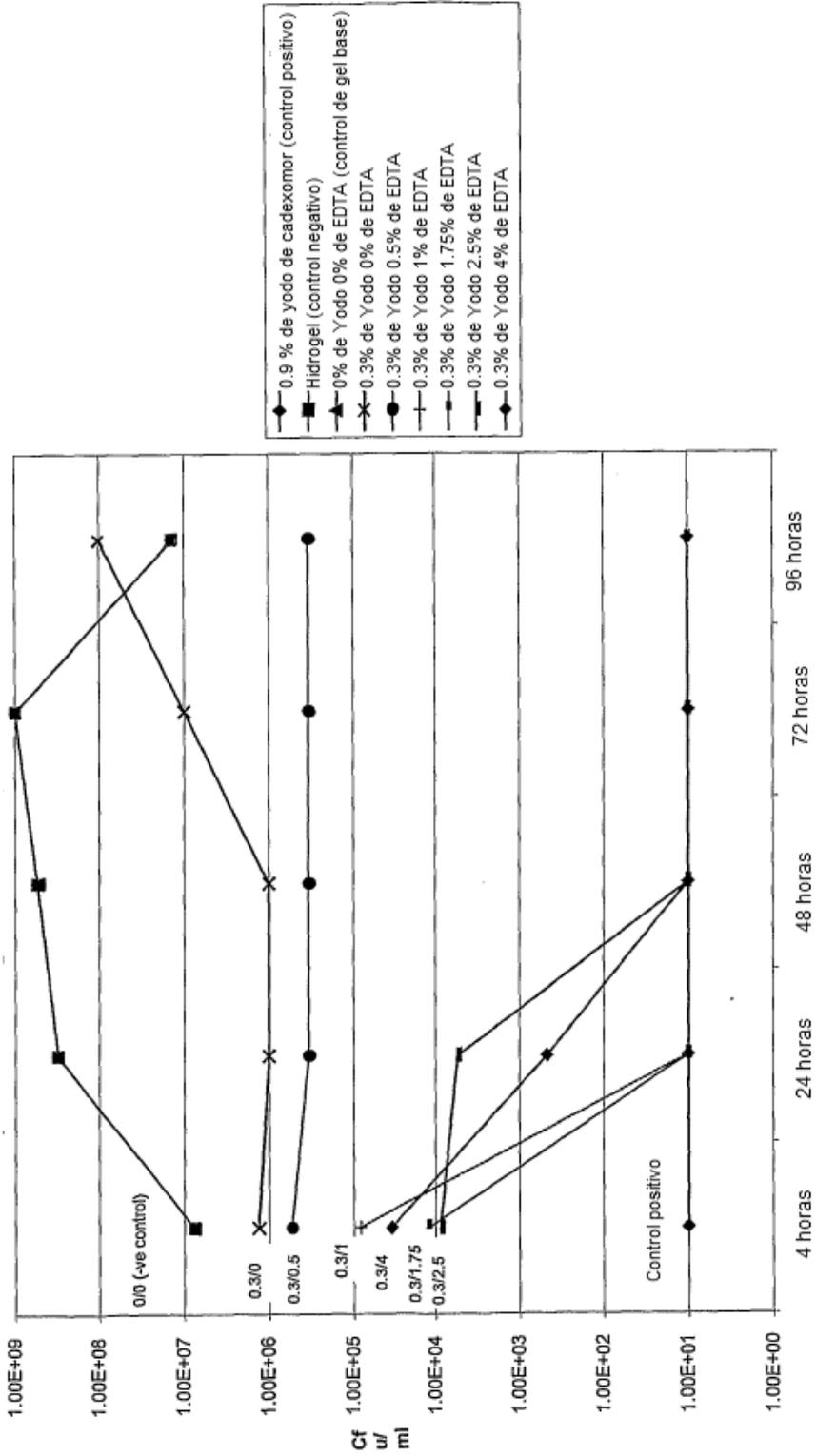


Figura 2
Apéndice A: MIC para EDTA di, tri y tetra

Microorganismo	Identificación	Inóculo, cfu	MIC		
			di Na	tri Na	tetra Na
<i>S marcescens</i>	multi res	5.00E+04	0.938	1.875	0.938
<i>Ps aeruginosa</i>	NCTC 8506 (res)	6.75E+04	0.234	0.234	0.234
<i>Ps aeruginosa</i>	NCIMB 8626	7.00E+04	0.938	0.938	0.938
<i>E coli</i>	NCIMB 8545	5.50E+04	0.469	0.469	0.469
<i>E coli</i>	NCIMB 10544	<5.0+04	0.469	0.938	0.469
<i>Kl pneumoniae</i>	033 aislado clínico	<5.0+E4	0.938	0.938	1.875
<i>Ent cloacae</i>	166 aislado clínico	5.00E+04	1.875	0.938	0.938
<i>Pr mirabilis</i>	NCTC 9559	1.50E+05	0.469	0.469	0.469
<i>A baumannii</i>	NCIMB 9214	4.40E+04	0.234	0.234	0.469
<i>S aureus</i>	NCIMB 9518	4.00E+04	0.234	0.234	0.234
MRSA	1 Cardiff PHL	5.50E+04	0.117	0.469	0.234
MRSA	2 Cardiff PHL	5.75E+04	0.234	0.469	0.234
MRSA	26	1.25E+04	0.234	0.234	0.234
MRSA	NCTC 12232	5.00E+04	0.234	0.234	0.469
MRSA	NCTC 10442	6.50E+04	0.234	0.234	0.234
MRSA	103731 Chester PHL	6.00E+04	0.234	0.117	0.234
<i>Ent faecalis</i>	141 aislado clínico	2.50E+04	0.234	0.234	0.234
VRE	1 Cardiff PHL	2.75E+04	0.234	0.469	0.234
VRE	2 Cardiff PHL	3.25E+04	0.234	0.234	0.234
VRE	NCTC 12201	6.00E+04	0.234	0.234	0.234
<i>Strep pyogenes</i>	NCTC 8198	7.00E+04	0.234	0.469	0.469
<i>B subtilis</i>	NCTC 3610	3.00E+04	0.234	0.234	0.234
<i>C krusei</i>	NCPF 3876 (res)	1.50E+04	0.938	0.938	0.938
<i>B fragilis</i>	NCIMB 9343	1.90E+05	0.117	0.234	0.234
<i>Cl perfringens</i>	362 aislado clínico	9.00E+03	0.117	<0.117	<0.117
<i>Pep anaerobius</i>	NCTC 11460	1.30E+06	0.234	0.469	0.469