

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 947**

51 Int. Cl.:

**C02F 1/50** (2006.01)

**C02F 1/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2008 PCT/US2008/065197**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.02.2009 WO09020694**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2008 E 08756482 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017 EP 2173670**

54 Título: **Método para reprimir biopelículas microbianas en sistemas acuosos**

30 Prioridad:

**08.08.2007 US 835722**

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

**27.11.2017**

73 Titular/es:

**GENERAL ELECTRIC COMPANY (100.0%)  
1 River Road  
Schenectady, NY 12345, US**

72 Inventor/es:

**WHITEKETTLE, WILSON, KURT;  
TAFEL, GLORIA, JEAN y  
ZHAO, QING**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 643 947 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

Método para reprimir biopelículas microbianas en sistemas acuosos

## CAMPO DEL INVENTO

5 El campo del invento se refiere a destruir biopelículas microbianas en sistemas acuosos. Más particularmente, el invento se refiere al uso de compuestos antimicrobianos o de otro tipo para destruir una biopelícula microbiana.

## ANTECEDENTES DEL INVENTO

10 Muchos tipos diferentes de operaciones industriales o comerciales recurren a grandes cantidades de agua por razones diversas, tal como para sistemas de refrigeración o para producir grandes cantidades de aguas residuales, que necesitan ser tratadas. Estas industrias incluyen, pero no se limitan a, las de agricultura, petróleo, productos químicos, productos farmacéuticos, minería, chapado de metales, materiales textiles, fermentación, tratamiento de alimentos y bebidas y de semiconductores. Las biopelículas que aparecen en la naturaleza son producidas continuamente y con frecuencia se acumulan en numerosas superficies estructurales o de equipos o sobre superficies naturales o biológicas. En contextos industriales, la presencia de estas biopelículas provoca una disminución en la eficiencia de la maquinaria industrial, requiere un mantenimiento aumentado y presenta potenciales riesgos para la salud. Un ejemplo lo constituyen las superficies de torres de refrigeración de agua que resultan crecientemente revestidas con lodos de biopelículas producidos microbianamente que estrechan la circulación de agua y reducen la capacidad de intercambio de calor. Específicamente, en un agua circulante o estancada, las biopelículas pueden causar graves problemas incluyendo bloqueos de tuberías, corrosión de equipos por crecimiento de microbios bajo las películas y crecimiento de bacterias patógenas potencialmente perjudiciales. 15 20 Las biopelículas de torres de refrigeración con agua pueden formar un puerto o depósito que perpetúa el crecimiento de microorganismos patógenos tales como *Legionella pneumophila*.

25 Las conducciones para la preparación de alimentos están rutinariamente plagadas por una acumulación de biopelículas tanto sobre la maquinaria como sobre el producto alimentario, en donde las biopelículas incluyen con frecuencia patógenos potenciales. Las biopelículas industriales son reuniones complejas de biopolímeros ricos en polisacáridos insolubles, que se producen y elaboran por microorganismos que viven en la superficie. Más particularmente, las biopelículas o los lodos microbianos/os se componen de polisacáridos, proteínas y lipopolisacáridos que se extruden a partir de ciertos microbios que les permiten adherirse a superficies sólidas en contacto con entornos acuosos y forman colonias persistentes de bacterias sésiles que prosperan dentro de una película protectora. La película puede permitir que crezcan especies anaerobias, produciendo condiciones ácidas o corrosivas. Para reprimir estos problemas se necesitan procedimientos y productos antimicrobianos que repriman la formación y el crecimiento de biopelículas. La represión de biopelículas implica impedir la adherencia de microbios y/o eliminar biopelículas existentes desde las superficies. Mientras que la eliminación en muchos contextos se consigue mediante cortos tratamientos de limpieza con agentes altamente cáusticos u oxidantes, la mayor parte de los materiales más corrientemente usados para reprimir biopelículas son biocidas y dispersantes. En la patente de los EE.UU. n° 5.411.666, se enseña un método de eliminar una biopelícula o de impedir la acumulación de una biopelícula sobre un sustrato sólido, que comprende una combinación de por lo menos dos enzimas producidas biológicamente, tales como una proteasa ácida o alcalina o una glucoamilasa o alfa amilasa y por lo menos un agente tensioactivo. La patente de los EE.UU. n° 6.759.040 enseña un método para preparar mezclas degradantes de biopelículas, con múltiple especificidad para enzimas hidrolíticas, que están destinadas a eliminar biopelículas específicas. 30 35 40

45 La patente de los EE.UU. n° 6.267.897 se refiere a un método de inhibir la formación de biopelículas en sistemas de aguas, comerciales e industriales por adición de uno o más aceites industriales al sistema. Sin embargo, aunque los biocidas son eficaces para reprimir suspensiones de microorganismos dispersados, es decir microbios del plancton, los biocidas no trabajan bien contra microbios sésiles, que son la base de las biopelículas. Esto es debido al hecho de que los biocidas tienen dificultades para penetrar en las capas de lodos de polisacáridos/proteínas que rodean a las células microbianas. Las biopelículas más gruesas ven poca penetración de biocidas y una mala eficacia biocida es el resultado. Tal como se divulga en la técnica anterior, un método de intentar reprimir mejor las biopelículas ha consistido en añadir agentes dispersantes y humectantes a composiciones biocidas para aumentar la eficacia de los biocidas. Los biodispersantes pueden trabajar para mantener a los microbios del plancton lo suficientemente dispersados para que ellos no se aglomeren ni consigan las densidades locales necesarias para iniciar los procesos extracelulares responsables del anclaje a una superficie, o para iniciar mecanismos formadores de películas o colonias. Como componentes en formulaciones de tratamientos biocidas, estos biodispersantes han ayudado a abrir canales en la biopelícula para permitir una mejor permeabilidad de los agentes tóxicos y para dispersar mejor los conglomerados y las aglomeraciones microbianos/as que se han debilitado y se han liberado desde las superficies. 50 Sin embargo, los biodispersantes han probado ser más eficaces para impedir una formación inicial de biopelículas que para retirar biopelículas existentes. En muchos casos, la actividad biodispersante ha sido responsable de solamente un 25 a 30 % de la eliminación de biomasa a partir de superficies incrustadas biológicamente, incluso cuando se usan en conjunción con un agente biocida. 55

Por lo tanto existe todavía una clara necesidad de unos medios eficientes y efectivos para penetrar en biopelículas existentes y aniquilar organismos de biopelículas con una matriz de biopelícula, disminuir la incrustación de los sistemas de microfiltración, proporcionar una limpieza y/o un reemplazo menos frecuente, y mejorarían el proceso de filtración global.

## 5 SUMARIO DEL INVENTO

Se ha encontrado un procedimiento que aumenta la eficiencia y la efectividad de introducir compuestos antimicrobianos dentro de matrices complejas, mediante el uso de vehículos de liposomas, eliminando de esta manera la incrustación en sistemas de conductos de agua industriales, incluyendo tuberías, intercambiadores de calor, condensadores, sistemas y medios de filtración, y depósitos para el almacenamiento de fluidos.

10 De acuerdo con una forma de realización del invento, se añaden unos liposomas que contienen un agente antimicrobiano, tal como un biocida hidrófilo, a un sistema de agua propenso a la incrustación biológica y a la formación de biopelículas. Los liposomas, que tienen una composición similar a la superficie microbiana o al material en el que se alimentan los microbios, se incorporan con facilidad dentro de la biopelícula existente. Una vez que los liposomas resultan arrastrados con la matriz de biopelícula, se desarrolla una digestión, una descomposición o una desintegración programada del liposoma, liberando el agente antimicrobiano, o un núcleo acuoso biocida reacciona localmente con los microorganismos encerrados en películas. Al producirse la muerte de los organismos, la matriz de polisacáridos/proteínas no puede ser repuesta y se descompone y de esta manera da como resultado una incrustación biológica reducida del sistema portador de agua. Dependiendo de los sistemas acuosos particulares implicados esta eliminación de biopelículas o en esta destrucción de biopelículas da como resultado por lo tanto una

15

20 aumentada transferencia de calor (en intercambiadores de calor industriales), un flujo aumentado (en el filtro o la membrana de filtración), menos deposiciones de materiales sólidos coloidales y en forma de partículas y materiales orgánicos disueltos sobre la superficie de la membrana de microfiltración, reduciendo de esta manera la frecuencia y duración de la limpieza y el reemplazo final de la membrana, o una reducción general de condiciones superficiales corrosivas en tuberías, depósitos, recipientes u otros equipos industriales.

25 Las diversas características de novedad que caracterizan al invento se señalan con particularidad en las reivindicaciones anejas y que forman una parte de esta divulgación. Para una mejor comprensión del invento sus ventajas y los beneficios de funcionamiento obtenidas por sus usos, se hace referencia a los dibujos acompañantes y a la materia descriptiva. Los dibujos acompañantes están destinados a mostrar ejemplos del invento. Los dibujos no están destinados a mostrar los límites de todas las maneras en las que el invento se puede realizar y usar. Se pueden hacer desde luego cambios en, y sustituciones de, los diversos componentes del invento. El invento reside asimismo en sub-combinaciones y sub-sistemas de los elementos descritos, y en métodos de usarlos.

30

## BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Se hace ahora referencia a las figuras, que se pretende que sean ilustrativas y no limitativas y en donde elementos iguales son numerados del mismo modo y no todos los números se repiten en cada figura por claridad de ilustración.

35 La Fig. 1 muestra los resultados en forma de gráfico de la eficacia de una mezcla de liposomas/etileno bis tiocianato (MBT) en diversas concentraciones.

La Fig. 2 muestra los resultados en forma de gráfico de la eficacia de mezclas de liposomas/metileno bis tiocianato (MBT) en diversas concentraciones.

40 La Fig. 3 muestra los resultados en forma de gráfico de la eficacia de mezclas de liposomas/MBT en diversas concentraciones variables.

La Fig. 4 muestra los resultados en forma de gráfico de la eficacia de dos formulaciones de hidrocloreuro de decilguanidina (DGH)/liposomas en concentraciones variables.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL INVENTO

45 Aunque el presente invento se describe haciendo referencia a ejemplos ilustrativos y a formas de realización preferidas, se pueden hacer diversos cambios o sustituciones en estas formas de realización por los expertos ordinariamente en la especialidad pertinente del presente invento sin apartarse del alcance técnico del presente invento. Por lo tanto, el alcance técnico del presente invento abarca no solamente esas formas de realización antes descritas sino también todas las que caen dentro del alcance de las reivindicaciones anejas.

50 Un lenguaje aproximado, como se usa en el presente caso a lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones, se puede aplicar para modificar cualquier representación cuantitativa que permisiblemente podría variar sin dar como resultado un cambio en la función básica con la que ésta se relaciona. Correspondientemente,

un valor modificado por un término o varios términos, tales como "aproximadamente", no está limitado al valor exacto especificado. En por lo menos algunos casos el lenguaje aproximado puede corresponder a la precisión de un instrumento para medir el valor. Las limitaciones de intervalos se pueden combinar y/o intercambiar, y dichos intervalos son identificados e incluyen todos los sub-intervalos aquí incluidos en el presente caso a menos que el contexto o el lenguaje indique otra cosa distinta. Aparte de en los ejemplos de funcionamiento o donde se indique otra cosa distinta, todos los números o todas las expresiones que se refieran a cantidades de ingredientes, condiciones de reacción y similares, usadas en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, han de entenderse como modificadas en todos los casos por el término "aproximadamente".

Como se usa en el presente contexto, se pretende que los términos "comprende", "comprender", "incluye", "incluir", "tiene", "tener" o cualquier variante de ellos cubran una inclusión no exclusiva. Por ejemplo, un procedimiento, un método, un artículo o un aparato que comprende una lista de elementos no está limitado necesariamente a sólo estos elementos sino que puede incluir otros elementos no enumerados expresamente o inherentes a dicho procedimiento, método, artículo o aparato.

Se ha encontrado un procedimiento que aumenta la eficiencia y la efectividad de introducir compuestos antimicrobianos dentro de matrices complejas mediante el uso de vehículos de liposomas, retirando de esta manera la incrustación biológica en sistemas de conductos de agua industriales, incluyendo tuberías, intercambiadores de calor, condensadores, sistemas y medios de filtración y depósitos para el almacenamiento de fluidos.

De acuerdo con una forma de realización se añaden liposomas que contienen un agente o compuesto biocida o antimicrobiano a un sistema acuoso propenso a la incrustación biológica y a la formación de biopelículas. Los liposomas, que tienen una composición similar a membranas o células microbianas, se incorporan con facilidad dentro de la biopelícula existente. Una vez que los liposomas que contienen compuestos antimicrobianos se difunden dentro de la matriz de biopelícula, se adsorben a o resultan arrastrados de otro modo por ella, se desarrolla la descomposición o la desintegración programada del liposoma. Esto es, que la descomposición de los lípidos y la liberación del biocida se pueden programar para que sucedan haciendo que la matriz de lípido sea sensible al pH, al potencial redox, a la concentración de  $Ca^{2+}$ , o a otros cambios. Después de ello, el componente biocida (que se puede concentrar en el núcleo acuoso del liposoma o en la porción de membrana lipídica del liposoma, se libera para reaccionar directamente con los microorganismos encerrados en la biopelícula. De esta manera, en vez de añadir un biocida en altos niveles al sistema de masa de agua, se saca una pequeña cantidad del biocida encerrado en el liposoma por la biopelícula o por organismos (del plancton) libres, y la degradación del liposoma libera al biocida localmente en o junto a los organismos dianas o su nicho de matriz de película. El biocida alcanza de esta manera localmente una alta concentración para aniquilar los organismos dianas, y al producirse la muerte de los organismos, la matriz de polisacáridos/proteínas que forma la biopelícula no puede ser regenerada y se descompone, y de esta manera da como resultado una incrustación reducida del sistema portador de agua, dando como resultado una transferencia de calor aumentada, un flujo aumentado, menos deposiciones de materiales sólidos coloidales y en forma de partículas y compuestos orgánicos disueltos sobre la superficie de la membrana de microfiltración, reduciendo de esta manera la frecuencia y la duración de la limpieza y el reemplazo final de las membranas u otros beneficios.

Los liposomas, o cuerpos lipídicos, son unos sistemas en los que se añaden lípidos a un tampón acuoso para formar vesículas, es decir unas estructuras que encierran un cierto volumen. Más específicamente, los liposomas son unas vesículas microscópicas que lo más corrientemente se componen de fosfolípidos y agua. Cuando se han mezclado apropiadamente, los fosfolípidos se disponen automáticamente dentro de una bicapa o multicapas, que son muy similares a una membrana celular, que rodea a un núcleo de volumen acuoso. Se pueden producir liposomas para que lleven diversos compuestos o productos químicos dentro del núcleo acuoso, o los compuestos deseados se pueden formular en un vehículo apropiado para entrar en la(s) capa(s) lipídicas. Los liposomas se pueden producir en diversos tamaños y se pueden fabricar con unos diámetros desde inferiores al micrómetro hasta de múltiples micrómetros. Los liposomas se pueden fabricar según diversos procedimientos conocidos. Dichos procedimientos incluyen, pero no se limitan a, evaporación controlada, extrusión, inyección, elaboradores de microfluidos y mezcladores del tipo de rotor y estator. Los liposomas se pueden producir en unos diámetros que varían entre aproximadamente 10 nanómetros y los mayores que aproximadamente 15 micrómetros. Cuando se producen en unos tamaños desde aproximadamente 100 nanómetros a aproximadamente 2 micrómetros, los liposomas son muy similares en cuanto al tamaño y la composición a la mayor parte de las células microbianas. Los liposomas que contienen biocidas o compuestos antimicrobianos se deberían producir en unos tamaños que imiten a las células bacterianas, desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 15  $\mu$ , o alternativamente, alrededor de 0,1 a 10,0  $\mu$ .

Unas cantidades efectivas del liposoma que contiene biocidas se introduce en un sistema acuoso que es propenso a la incrustación biológica y a la formación de biopelículas y se puede introducir dentro de sistemas que ya exhiben signos de incrustación biológica o formación de biopelículas. La cantidad efectiva variará según sea el compuesto antimicrobiano o biocida, y el sistema acuoso al que éste se añade, pero una forma de realización proporciona desde aproximadamente 0,01 ppm hasta aproximadamente 20 ppm, con una alternativa de desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 15 ppm, alternativamente desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 0,5

ppm. Los liposomas, que son similares en cuanto a la composición a las membranas o células microbianas, se incorporan con facilidad dentro de la biopelícula existente y resultan arrastrados dentro de la matriz de biopelícula. Al producirse la descomposición o la desintegración programada del liposoma, el compuesto biocida presente en el núcleo acuoso o fijado a la membrana se libera para reaccionar directamente con los microorganismos encerrados en la biopelícula. Al producirse la muerte de los microorganismos, la matriz de polisacáridos/proteínas se descompondrá con rapidez, liberando a la superficie de microbios contaminantes. Una característica principal del invento consiste en que los liposomas del presente invento constituyen unos cuerpos hidrófobos extremadamente pequeños que pueden sobrevivir con facilidad en el sistema acuoso y dispersarse en él, y además se adsorberán a, o penetrarán en, una biopelícula y preferiblemente se dirigirán o serán dirigidos por los microbios que habitan, constituyen o sostienen a la biopelícula. Como tales, ellos suministran un agente biocida directamente a los microbios o a la biopelícula, dando como resultado un nivel de actividad biocida efectivo localmente, sin requerir que el sistema acuoso sostenga como un todo a una alta dosis. Así, cuando un convencional tratamiento de biopelículas puede requerir la dosificación un producto químico biocida a granel en un cierto nivel, el suministro a través del liposoma se puede dosificar en niveles más bajos en un orden de magnitud o más en el sistema acuoso y a pesar de todo todavía conseguirán o se acumularán hasta, un nivel que reprima o elimine efectivamente la biopelícula. Desde luego, mientras que los términos "antimicrobiano" o "biocida" se han empleado para describir el agente soportado por el liposoma, estos agentes no necesitan ser los materiales altamente bioactivos que normalmente se entienden por estos términos, sino que pueden incluir un cierto número de materiales relativamente inocuos que se vuelven altamente efectivos simplemente en virtud de su liberación altamente localizada. Así, por ejemplo, unos agentes tensioactivos o unas sales inocuos/as, cuando se liberan localmente, pueden afectar a la acción normal de secreciones extracelulares formadoras de colonias, y se han de incluir como agentes antimicrobianos o biocidas para las finalidades del invento, y el mismo mecanismo se puede emplear para suministrar otros productos químicos de tratamiento a los sitios con biopelículas a los que ellos se dirigen.

Unos sistemas acuosos que se pueden tratar por este método incluyen, pero no se limitan, a sistemas de distribución de agua potable y no potable, torres de refrigeración, sistemas de calderas, duchas, acuarios, aspersores, termas, baños limpiadores, lavadores de aire, pasterizadores, acondicionadores de aire, tuberías transportadoras de fluidos, depósitos de almacenamiento, resinas intercambiadoras de iones, conducciones para el tratamiento de alimentos y bebidas, baños fluidos para metalurgia, lodos de carbón y minerales, fluidos para lixiviación de metales, instalaciones de tratamiento de aguas residuales, control de moluscos y drenaje de minería o cualquier aplicación propensa a la incrustación biológica por especies microbianas. En una aplicación tal como en oleoductos, en donde las biopelículas se forman en sumideros o lentes acuosos estancados o agrupados a lo largo del sistema de conductos, éstas pueden ser tratadas también efectivamente.

Unas aplicaciones adicionales para el suministro de liposomas de un producto químico de tratamiento son tratamientos contra la corrosión para equipos en general, suministro de hormonas, tratamientos de vitaminas o antioxidantes o terapias con antibióticos y génicas para finalidades médicas o veterinarias, suministro de plaguicidas para agricultura y usos domésticos comerciales, formulaciones efectivas de aditivos a, y conservantes de alimentos, suministro dirigido de sistemas de detección químicos y biológicos, mejoramiento del color y del sabor, control del olor y administración de plagas acuáticas.

Una diversidad de conocidos biocidas o compuestos antimicrobianos se puede incorporar dentro de los liposomas. Algunos ejemplos de compuestos antimicrobianos que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, compuestos antimicrobianos no oxidantes, oxidantes, biodispersantes y molusquicidas, y sus combinaciones. Más específicamente unos apropiados compuestos antimicrobianos incluyen, pero no se limitan a, 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona / 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, cloruro de n-alkil-dimetilbencilamonio, 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamidometileno-bis(tiocianato), hidrocioruro de dodecilguanidina, glutaraldehído, 2-(terc-butilamino)-4-cloro-6-(etilamino)-s-triazina, beta-bromonitroestireno, óxido de tributil-estaño, cloruro de n-tributiltetradecil fosfonio, cloruro de tetrahidroximetil fosfonio, 4,5,-dicloro-1,2,-ditiol-3-ona, dimetilditiocarbamato de sodio, etilbisditiocarbamato de disodio, bis(triclorometil)-sulfona, 3,5-dimetil-tetrahidro-2H-1,3,5,-tiadiazina-2-tiona, 1,2,-benzotiazolin-3-ona, hidrocioruro de deciltioetilamina, sulfato de cobre, nitrato de plata, bromoclorodimetil-hidantoína, bromuro de sodio, diclorodimetil-hidantoína, hipoclorito de sodio, peróxido de hidrógeno, dióxido de cloro, clorito de sodio, cloruro de bromo, ácido peracético y sus precursores, tricloroisocianurato de sodio, tricloroisocianurato de sodio, copolímeros de óxido de etileno/óxido de propileno, ácido triclorohexanoico, polisiloxanos, carbosilanos, polietilimina, dibromo,diciano butano y sus combinaciones.

Las cantidades efectivas del biocida incorporado dentro del liposoma dependerían del biocida o agente incorporado allí dentro. Sin embargo, las cantidades efectivas incluyen desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 5 gramos de biocida activo por gramo de lípido, o alternativamente desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 2 gramos de biocida activo por gramo de lípido.

Los liposomas del presente invento se pueden crear como cuerpos de múltiples capas, en los que se prevén una o más capas adicionales para mejorar la estabilidad de los liposomas o para efectuar una liberación programada del cuerpo lipídico subyacente y de su contenido. Así, no a diferencia de la tecnología usada para encapsular medicinas para el suministro intracorporal, las capas adicionales pueden incluir una capa protectora que es hidrolizada o se

descompone de otro modo a lo largo del tiempo para proporcionar una liberación prolongada o un tiempo de vida útil más largo del liposoma subyacente. Dicha capa adicional puede incluir adicional o alternativamente un polímero encapsulador que se descompone selectivamente cuando el liposoma de múltiples capas se encuentra con un entorno con un bajo valor del pH, similar al entorno corrosivo de alta acidez que puede desarrollarse por debajo de una biopelícula. Se puede arreglar una capa para que sea vulnerable a bacterias fijadoras de azufre, dando lugar a que el liposoma libere específicamente su biocida en proximidad a estos organismos corrosivos con frecuencia presentes en un sistema de desechos o de tuberías. Además, varias de tales capas se pueden emplear para asegurar un suficiente tiempo de vida útil del liposoma, preferiblemente del orden de varios días, así como una capacidad de dirigirse a un nicho específico o entorno de la biopelícula. Esto asegura que los liposomas se encontraran efectivamente con los organismos dianas o colonias de biopelículas y suministrarán sus biocidas a ellos/as. El material lipídico propiamente dicho puede ser tratado para proporcionar una resistencia mejorada a la hidrólisis o a la decadencia, o las capas añadidas se pueden formar a base de diversos aceites o polímeros endurecibles o reticulables.

El invento será descrito ahora con respecto a ciertos ejemplos que meramente son representativos del invento y no deberían ser considerados como limitativos del mismo.

#### EJEMPLO

El invento se ilustra en los siguientes ejemplos no limitativos, que se prevén con la finalidad de representación y no han de ser considerados como limitativos del alcance del invento. Todas las partes y todos los porcentajes en los ejemplos están en peso a menos que se indique otra cosa distinta.

Se crearon unos liposomas (con un diámetro medio de 150 nanómetros) que incorporan el biocida metileno bis tiocianato (MBT), un ingrediente activo biocida registrado en EE.UU. EPA. Los liposomas fueron colocados luego en placas de microtitulación que tenían unas biopelículas microbianas que las revestían. La eficacia inhibidora de microbios de los MBT-liposomas se comparó luego con la de un MBT no liposomal cuando se usaba en las mismas concentraciones de MBT. Los liposomas que contenían MBT penetraron en la biopelícula e inhibían los organismos de la biopelícula mucho efectivamente que la solución de MBT no liposomal (MBT testigo).

Dos liposomas contenían MBT se crearon y se designaron como MBT-1 (diámetro medio 155 nm) y MBT-2 (diámetro medio 137 nm) en los resultados.

Los resultados se muestran en las Figs. 1, 2 y 3. El MBT no liposomal es enumerado como el MBT testigo. Queda claro a partir de las figuras que ambas formulaciones de MBT liposomal tenían mejor eficiencia de aniquilación / eliminación de biopelículas que el MBT testigo en la mayoría de las concentraciones de liposomas que se ensayaron, siendo la excepción con la más alta concentración de MBT ensayada. Con la alta concentración de MBT (0,5 ppm), el uso de un liposoma como vehículo para el biocida se hace innecesario. El vehículo de liposoma es altamente efectivo para suministrar un biocida a la biopelícula en bajas concentraciones de MBT, proporcionando de esta manera mejor represión de biopelículas en concentraciones de BMT muy reducidas (toxicidad reducida y reducido rendimiento de costos).

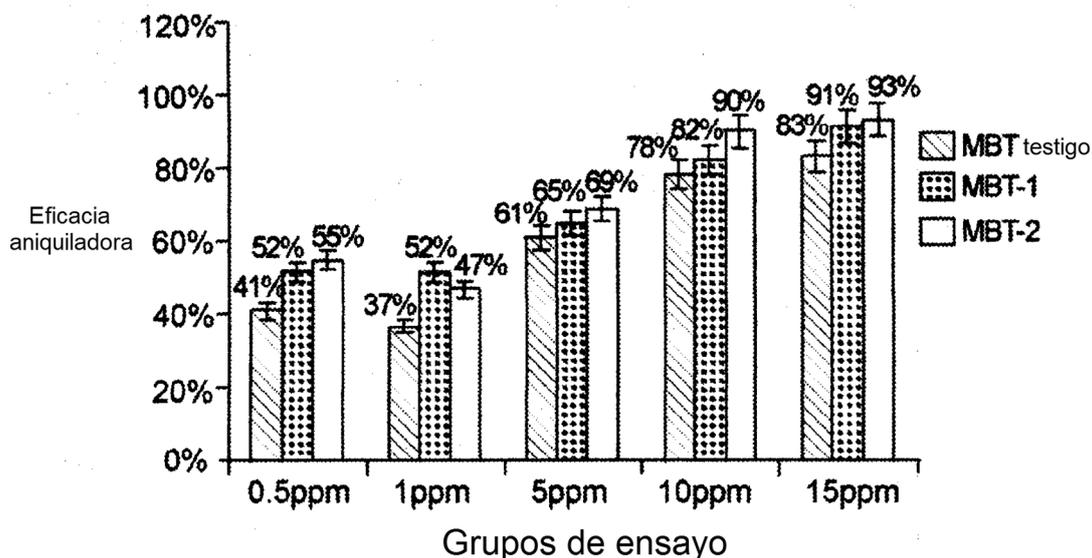
Se crearon también dos formulaciones de liposomas con hidrocloreuro de dodecilguanidina (DGH) y se designaron como FORM DGH-1 y FORM DGH-2. Estas formulaciones de liposomas se evaluaron también contra biopelículas de *Pseudomonas fluorescens* y se compararon en su eficacia con la de un DGH no liposomal en la misma concentración. Estos resultados se muestran en la Fig. 4. Ambas formulaciones de liposomas-DGH mostraron mayor eficacia que el DGH testigo contra la biopelícula de *Pseudomonas*, particularmente en el intervalo de concentraciones de 1,0 a 10 ppm.

Mientras que el presente invento se ha descrito haciendo referencia a formas de realización preferidas se pueden hacer diversos cambios o sustituciones en estas formas de realización por los expertos ordinarios en la especialidad pertinente al presente invento sin apartarse del alcance técnico del presente invento. Por lo tanto, el alcance técnico del presente invento abarca no solamente las formas de realización más arriba descritas, sino también todas las que caen dentro del alcance de las reivindicaciones anejas.

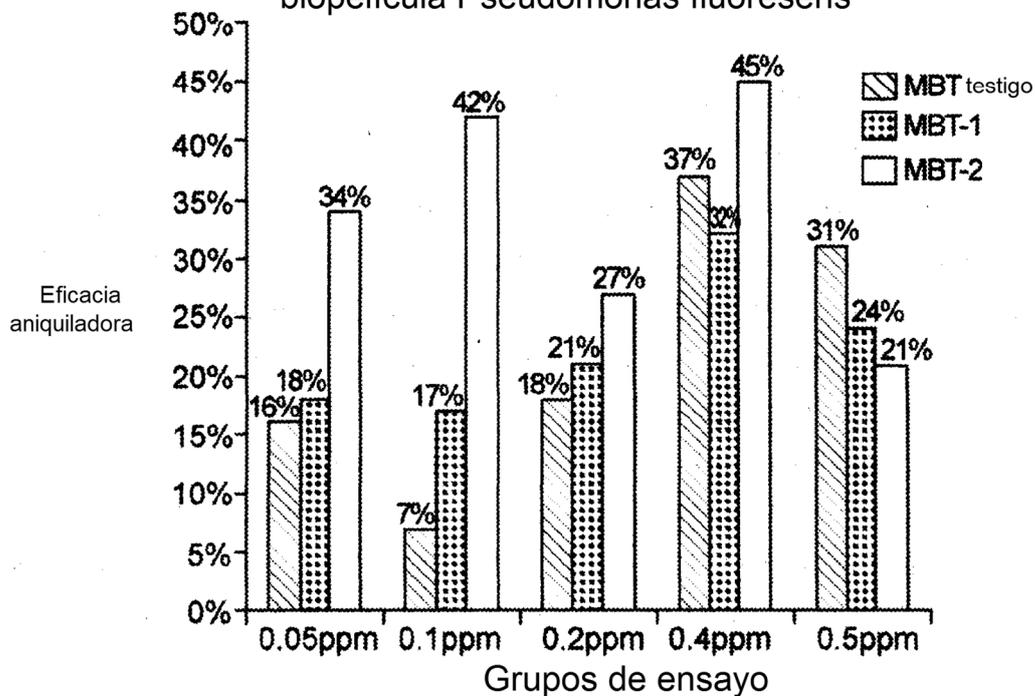
## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para reducir o eliminar la incrustación biológica de sistemas acuosos, que incluye una biopelícula que contiene bacterias, que comprende,
  - 5 crear un liposoma que contiene compuestos antimicrobianos, que tiene un tamaño de desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 15  $\mu\text{m}$ ; y
  - añadir el liposoma que contiene un compuesto antimicrobiano a un sistema acuoso que incluye una biopelícula en la que el liposoma que contiene un compuesto antimicrobiano se incorpora en la biopelícula, para aniquilar o eliminar la biopelícula y reducir o eliminar la incrustación biológica.
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto antimicrobiano se escoge entre el
  - 10 conjunto que se compone de compuestos antimicrobianos no oxidantes, oxidantes, biodispersantes y molusquicidas, y sus combinaciones.
3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto antimicrobiano se escoge entre el
  - 15 conjunto que se compone de 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona / 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, cloruro de n-alquil-dimetilbencilamonio, 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamidometilen-bis(tiocianato), hidrocioruro de dodecilguanidina, glutaraldehído, 2-(terc-butilamino)-4-cloro-6-(etilamino)-s-triazina, beta-bromonitroestireno, oxido de tributil-estaño, cloruro de n-tributiltetradecil fosfonio, cloruro de tetrahidroximetil fosfonio, 4,5,-dicloro-1,2,-ditiol-3-ona, dimetilditiocarbamato de sodio, etilenbisditiocarbamato de disodio, bis(triclorometil)-sulfona, 3,5-dimetil-tetrahidro-2H-1,3,5,-tiadiazina-2-tiona, 1,2,-benzoiotiazolin-3-ona, hidrocioruro de deciltioetilamina, sulfato de cobre, nitrato de plata, bromoclorodimetil-hidantoína, bromuro de sodio, diclorodimetil-hidantoína, hipoclorito de sodio, peróxido de hidrógeno, dióxido de cloro, clorito de sodio, cloruro de bromo, ácido peracético y sus precursores, tricloroisocianurato de sodio, tricloroisocianurato de sodio, copolímeros de óxido de etileno/óxido de propileno, ácido triclorohexanoico, polisiloxanos, carbosilanos, polietilenimina, dibromo,diciano butano y sus combinaciones.
4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los liposomas que contienen un biocida o
  - 25 compuesto antimicrobiano se producen en unos tamaños de desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ .
5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto antimicrobiano se incorpora dentro de un liposoma en una cantidad de desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 5,0 gramos de biocida activo por gramo de lípido.
6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto antimicrobiano se incorpora en un
  - 30 liposoma en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 2,0 gramos de biocida activo por gramo de lípido.
7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el liposoma que contiene un compuesto antimicrobiano se añade a un sistema acuoso en una cantidad de desde aproximadamente 0,01 ppm hasta aproximadamente 20 ppm.
8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sistema acuoso se escoge entre el conjunto que
  - 35 se compone de sistemas de distribución de agua, torres de refrigeración, sistemas de calderas, duchas, acuarios, aspersores, termas, baños limpiadores, lavadores de aire, pasterizadores, acondicionadores de aire, tuberías transportadoras de fluidos, depósitos de almacenamiento, resinas intercambiadoras de iones, conducciones para el tratamiento de alimentos y bebidas, baños fluidos para metalurgia, lodos de carbón y minerales, fluidos para
  - 40 lixiviación de metales, instalaciones de tratamiento de aguas residuales, control de moluscos y drenaje de minería o cualquier aplicación propensa a la incrustación biológica por especies microbianas.
9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sistema acuoso se escoge entre el conjunto que
  - 45 se compone de tratamientos anti-corrosión para equipos, suministro de hormonas, tratamientos de vitaminas o antioxidantes, terapias con antibióticos y génicas, suministro de plaguicidas para agricultura y usos domésticos comerciales; formulaciones de aditivos y conservantes de alimentos, suministro dirigido de sistemas de detección químicos y biológicos, mejoramiento del color y del sabor, control del olor y administración de plagas acuáticas.

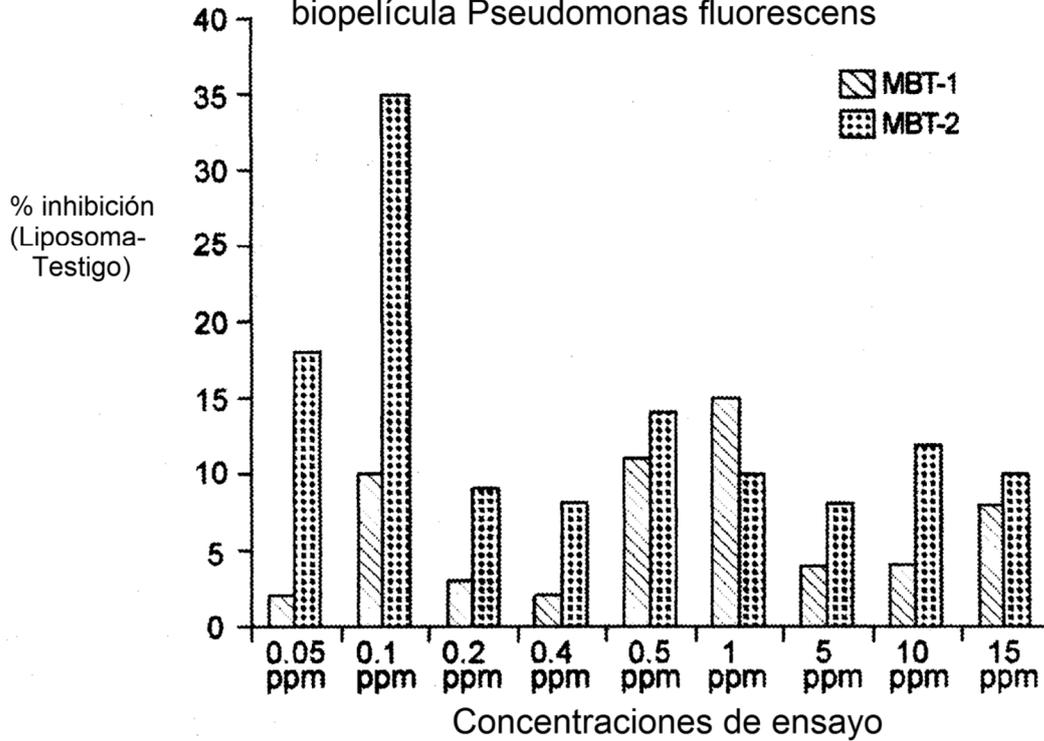
**FIG. 1** Eficacia biocida de liposoma/MBT sobre una biopelícula *Pseudomonas fluorescens*



**FIG. 2** Eficacia biocida de liposoma/MBT sobre una biopelícula *Pseudomonas fluorescens*



**FIG. 3** Eficacia de MBT-liposoma frente a una biopelícula *Pseudomonas fluorescens*



**FIG. 4** Eficacia de DGH-liposoma frente a una biopelícula *Pseudomonas fluorescens*

