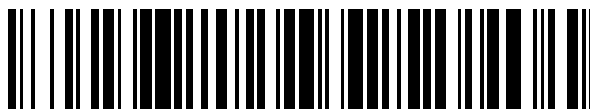


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 974**

51 Int. Cl.:

A61P 27/16 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/10 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 33/22 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 33/24 (2006.01)
A61K 33/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.05.2007** **PCT/US2007/068477**
87 Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2007** **WO07134055**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2007** **E 07762011 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2017** **EP 2029232**

54 Título: **Sistema de solvatación de polisacáridos extracelulares antibacteriano**

30 Prioridad:

10.05.2006 US 431495
24.04.2007 US 739508

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
23.01.2018

73 Titular/es:

MEDTRONIC XOMED, INC. (100.0%)
6743 SOUTHPOINT DRIVE NORTH
JACKSONVILLE, FL 32216-0980, US

72 Inventor/es:

MYNTTI, MATTHEW, F.;
OLIVER, DANA, A. y
LEWIS, CECIL, O.

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 650 974 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

Sistema de solvatación de polisacáridos extracelulares antibacteriano

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere al tratamiento de afecciones bacterianas de oído, nariz o garganta incluyendo otitis media crónica con efusión (OMCE), otitis media aguda recurrente (OMAR), colesteatoma y rinosinusitis crónica.

10 **Antecedentes**

OMCE y OMAR son enfermedades inflamatorias del oído medio. La formación de biopelícula puede ser un factor en la patogénesis de OMCE, véase Post, J.C., "Direct evidence of bacterial biofilms in otitis media", *Laryngoscope* 111(12):2083-94 (2001), Ehrlich et al., "Mucosal Biofilm Formation on Middle-Ear Mucosa in the Chinchilla Model of Otitis Media", *JAMA* 287(13):1710-15 (2002) y Fergie, N et al., "Is otitis media with effusion a biofilm infection?", *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 29(1):38-46 (2004). Las biopelículas se forman cuando las bacterias interactúan con una superficie para formar películas poliméricas (algunas veces denominadas polímeros de exopolisacárido o polisacáridos extracelulares) que recubren la superficie y proporcionan una colonia viva para proliferación bacteriana adicional. Las bacterias alojadas en biopelículas son mucho más difíciles de eliminar o destruir que las bacterias en un estado planctónico (suspendido), y son extremadamente resistentes a muchos antibióticos y biocidas. Se ha mostrado que tanto la matriz de polisacárido extracelular (EPS) como las toxinas producidas por un número de diferentes bacterias producen inflamación por el huésped. Parece que la inflamación crónica asociada con OMCE y OMAR es una respuesta del huésped a la biopelícula bacteriana.

OMCE y OMAR habitualmente se tratan inicialmente usando antibióticos orales y después, si es necesario, se tratan de forma más agresiva por colocación de un tubo de timpanostomía. Ocasionalmente, en casos que implican infección grave o contenido mucoso alto en el oído medio, el oído medio se puede irrigar (por ejemplo, con solución salina). Mientras que los tubos de timpanostomía funcionan en la mayoría de los pacientes, aproximadamente el 20% de los pacientes que se someten a colocación de tubo de timpanostomía primaria requieren una cirugía adicional (una adenoidectomía, un segundo conjunto de tubos de timpanostomía, y habitualmente tanto una adenoidectomía como colocación de tubos de timpanostomía) para tratar OMCE persistente y OMAR persistente.

El colesteatoma es otro estado de enfermedad del oído de preocupación. Aunque en general se piensa que es principalmente un quiste compuesto de células dérmicas, también se han implicado biopelículas de bacterias en esta enfermedad, véase Chole et al., "Evidence for Biofilm Formation in Cholesteatomas", *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 128, pp. 1129-33 (Oct. 2002). En colesteatoma, las biopelículas bacterianas parecen formar, provocar inflamación y causar la generación de un tumor benigno compuesto principalmente de bacterias en su núcleo y células dérmicas. El tumor puede erosionar tanto la cadena osicular (huesos auditivos) y el hueso mastoideo, afectando de forma perjudicial la audición. La exposición y escisión quirúrgica es el tratamiento más común para la eliminación del colesteatoma. Hasta el 25% de estos procedimientos fracasan debido a la recaída del colesteatoma y por tanto requieren cirugía adicional u otro tratamiento.

La rinosinusitis crónica (RSC) es la inflamación de los senos paranasales y se asocia con secreción nasal anterior o posterior, obstrucción nasal o presión facial, dolor o plenitud que persiste durante al menos aproximadamente doce semanas. La RSC afecta un 10% estimado o más de la población de los EE UU. La mayoría de los pacientes con RSC inicialmente se tratan con terapia médica, pero cientos o miles se someten a cirugía de senos endoscópica funcional (FESS) para RSC resistente cada año. Los pacientes con RSC con frecuencia tienen una calidad de vida reducida, y pueden requerir miles de millones de dólares en costes anuales de sanidad y tiempo de trabajo perdido. La RSC es una respuesta inflamatoria Th1 y Th2 a un número de mecanismos incluyendo, pero no limitados a, toxinas bacterianas, matrices de polisacáridos extracelulares secretados por bacterias y contenidos en una biopelícula bacteriana, hongos, reacciones alérgicas desarrolladas tanto contra bacterias como hongos (IgE) y trastornos autoinmunitarios. Las bacterias asociadas con RSC y su inflamación acompañante incluyen *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*. Las biopelículas que contienen una o más de estas especies y posiblemente que también contienen hongos pueden ser un factor en la patogénesis de RSC, véase, por ejemplo, Ramadan et al., "Chronic rhinosinusitis and biofilms", *Otolaryngol Head Neck Surg.* 132:414-417 (2005) y Ferguson et al., "Demonstration of Biofilm in Human Bacterial Chronic Rhinosinusitis", *Am J Rhinol.* 5:19, pp. 452-57 (2005). La matriz de polisacárido extracelular (EPS), las toxinas producidas por la colonia bacteriana, y los hongos que puede albergar la biopelícula bacteriana, pueden cada uno ser capaces de provocar una respuesta inflamatoria del huésped.

La etiología y cronicidad de OMCE, OMAR, colesteatoma y RSC parecen estar relacionadas con la presencia de biopelículas bacterianas, así como su postcirugía recalcitrante.

Compendio de la invención

Se pueden aplicar soluciones salinas y antibióticos a biopelículas bacterianas en el oído, nariz o garganta, pero en casos difíciles pueden no proporcionar alivio adecuado de afecciones crónicas. Se han empleado varias técnicas y productos para eliminar o destruir bacterias en biopelículas encontradas en líneas de agua dentales y en instrumentos médicos u otras superficies extracorpóreas, pero pueden ser poco adecuadas para tratar tejidos humanos. Sería deseable eliminar o destruir las bacterias que habitan biopelículas en el oído, nariz o garganta, y si es posible eliminar o desorganizar la biopelícula misma lo suficiente para desalentar la recolonización bacteriana y reformación de biopelícula. También sería deseable hacer eso al tiempo que se cumplen requisitos de biocompatibilidad para contacto con tejido humano, y mientras se usan pequeñas dosis de materiales administrados y periodos cortos de aplicación. Se ha descubierto ahora que un sistema de solvatación que comprende un agente secuestrante de iones metálicos y tensioactivo es sorprendentemente eficaz en desorganizar biopelículas bacterianas en el oído, nariz o garganta mientras que es lo suficientemente suave para la aplicación directamente sobre tejidos delicados o sensibles.

La invención proporciona, en un aspecto, un sistema de solvatación que comprende un agente secuestrante de iones metálicos, tampón suficiente de modo que el pH es mayor de 5, y más del 0,2% en peso de un tensioactivo que puede separar, eliminar o desorganizar de otra manera al menos una parte de una biopelícula unida o adherida a al menos una porción del oído medio o interno, a una superficie en una cavidad nasal o sinusal, o a un tejido bucal o faríngeo, para uso en el tratamiento de afecciones bacterianas de oído, nariz o garganta en las que el sistema de solvatación se aplica a la biopelícula.

La invención proporciona, en otro aspecto, un sistema de solvatación que comprende (a) un agente secuestrante de iones metálicos, (b) un tensioactivo dipolar que puede separar, eliminar o desorganizar de otra manera al menos una parte de una biopelícula unida o adherida a al menos una porción del oído medio o interno, a una superficie en una cavidad nasal o sinusal, o a un tejido bucal o faríngeo, y (c) tampón suficiente para proporcionar un pH mayor de 5, para uso en el tratamiento de afecciones bacterianas de oído, nariz o garganta en las que el sistema de solvatación se aplica a la biopelícula.

La invención proporciona en aún otro aspecto un sistema de solvatación adecuado para desorganizar biopelículas bacterianas en tejidos, el sistema comprende un agente secuestrante de iones metálicos, suficiente tampón de modo que el sistema de solvatación tenga un pH mayor de 5, más del 0,2% en peso de un tensioactivo catiónico o dipolar, y un agente antimicrobiano.

El sistema divulgado se puede usar para el tratamiento o cuidado posoperatorio del oído medio o interno, y para tratamiento rinológico, oral o faríngeo o cuidado posoperatorio. El sistema divulgado también se puede usar para tratar enfermedades o afecciones crónicas incluyendo otitis media crónica con efusión, otitis media aguda recurrente, colesteatoma, rinosinusitis crónica y otras afecciones bacterianas del oído, seno, cavidad bucal o garganta.

Breve descripción de las figuras

La **figura 1** es una vista transversal esquemática de un oído medio sometido a tratamiento mediante el método divulgado.

La **figura 2** es una vista aumentada de una parte de la **figura 1** que muestra la aplicación del sistema de solvatación divulgado a una biopelícula bacteriana próxima al istmo de la trompa de Eustaquio.

Los símbolos de referencia similares en las varias figuras del dibujo indican elementos similares. Los elementos en el dibujo no están a escala.

Descripción detallada de las formas de realización preferidas

La siguiente descripción detallada describe ciertas formas de realización y no se debe tomar en un sentido limitante. Todos los pesos, cantidades y proporciones en el presente documento son en peso, a menos que se indique específicamente otra cosa. Todos los términos mostrados posteriormente tienen los siguientes significados:

El término “agente antimicrobiano” se refiere a una sustancia que tiene la capacidad de producir más de un 90% de reducción numérica (viz., al menos una reducción del orden 1 log) en una población de una o más bacterias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenzae* o *Moraxella catarrhalis* usando el procedimiento de recuento de placas bacterianas descrito posteriormente en los ejemplos.

Los términos “unido” y “adherido” cuando se usan en referencia a una biopelícula bacteriana y una superficie significan que la biopelícula está establecida sobre y al menos parcialmente recubre o cubre la superficie, y tiene alguna resistencia a la eliminación de la superficie. Como la naturaleza de esta relación es compleja y se entiende mal, ningún mecanismo particular de unión o adherencia se pretende por tal término.

El término “biopelícula bacteriana” significa una comunidad de bacterias unida a una superficie, estando contenidos los organismos en la comunidad dentro de una matriz de sustancia polimérica extracelular (EPS) producida por las bacterias.

- 5 El término “biocompatible” cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia no presenta efectos perjudiciales o adversos significativos sobre el cuerpo.

10 El término “biodegradable” cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia se degradará o erosionará in vivo para formar especies químicas más pequeñas. Tal proceso de degradación puede ser enzimático, químico o físico.

El término “biorreabsorbible” cuando se usa en referencia a una sustancia significa que la sustancia puede ser absorbida por el cuerpo.

- 15 Los términos “despegar”, “eliminar” y “desorganizar” cuando se usan en referencia a una biopelícula bacteriana unida o adherida a una superficie significan que al menos una cantidad significativa de la biopelícula inicialmente presente en la superficie ya no está unida o adherida a la superficie. No se pretende ningún mecanismo particular de separación, eliminación o desorganización por tal uso.

- 20 El término “agente secuestrante” significa una sustancia química que se combinará con otro material, especialmente un ion metálico, para desalentar o prevenir que el material deje de estar en solución. El término “agente secuestrante de iones metálicos” significa un agente secuestrante que se combinará con uno o más iones metálicos tal como metales alcalinos, metales alcalinotérreos, hierro y similares para desalentar o prevenir que el ion metálico deje de estar en solución. En orden de número atómico creciente los metales alcalinos son litio, sodio, potasio, rubidio, cesio y francio, y los metales alcalinotérreos son berilio, magnesio, calcio, estroncio, bario y radio.

El término “solvatación” significa formar una solución o dispersión que contiene un solvente u otro soporte dentro del cual un soluto se disuelve o resuspende.

- 30 Con respecto a la **figura 1**, un método para aplicar el sistema de solvatación a un sitio de tratamiento tal como dentro del oído **10** se puede realizar insertando la cánula **12** a través del canal del oído **14** y tubo del oído **16** (que puede, por ejemplo, colocarse, mediante miringotomía) en la membrana timpánica **18** y desde allí en el oído medio **20**. La cánula **12** también se puede insertar de otras maneras sin miringotomía, tal como mediante una aguja u otro dispositivo de guía dirigido a través del oído, trompas de Eustaquio o nariz, y operar a ciegas o usando técnicas guiadas tal como microendoscopia, endoscopia guiada por imagen virtual, o cirugía guiada por imagen usando un dispositivo flexible de punta rastreada. Como se muestra en la **figura 1**, el extremo distal **22** de la cánula **12** se coloca por encima del istmo **24** de la trompa de Eustaquio **26**. La cánula **12** se puede colocar y si es necesario modificarse en forma o tamaño de modo que trate otras partes de oído medio **20** (que para fines de esta discusión se juzga que incluye al menos la membrana timpánica, el revestimiento del oído medio, estructuras interiores tal como la cadena osicular y estructuras limitantes tal como el mastoideo), para tratar partes del oído interno (que para los fines de esta discusión se juzga que incluye al menos los canales semicirculares **28** y la cóclea **30**), o para tratar otros sitios en las cavidades sinusales, cavidad bucal o garganta. Por ejemplo, si se desea el tratamiento del oído interno, se puede hacer una abertura de acceso adicional (por ejemplo, en una membrana cerca de la ventana redonda o la ventana oval).

- 45 La **figura 2** muestra una vista aumentada de una parte de la **figura 1**. El sistema de solvatación se puede dispensar a través de orificios **34** localizados en la pared lateral **36**, y gotear, rociar o administrar de otra manera sobre una biopelícula bacteriana tal como una biopelícula **38** dispuesta en la parte superior **40** de la trompa de Eustaquio **26**.

- 50 El método divulgado se puede realizar en otros procedimientos del oído, nariz o garganta. Por ejemplo, el método se puede realizar en las cavidades nasal o sinusal de un paciente. El método también se puede realizar aplicando el sistema de solvatación a las amígdalas, adenoides o tejido adyacente. Esto se puede hacer cuando las amígdalas y adenoides están intactas, o realizar de forma posoperatoria después de la eliminación de las amígdalas, adenoides o tanto amígdalas como adenoides, por ejemplo, aplicando el sistema de solvatación a la garganta, tal como a la fosa amigdalina.

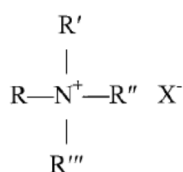
- 60 El sistema de solvatación se puede usar para romper biopelículas bacterianas en tejidos del oído, nariz o garganta y por consiguiente ayudar en su separación, eliminación o desorganización. El sistema de solvatación preferiblemente es biocompatible con los tejidos y estructuras delicados del oído medio o interno, y deseablemente no contiene ingredientes que podrían potencialmente dañar tales tejidos o estructuras o comprometer excesivamente la audición a largo plazo. El sistema de solvatación deseablemente tiene una viscosidad suficientemente baja para permitir la fácil administración a la biopelícula bacteriana usando, por ejemplo, espray en polvo u otra aplicación de espray, lavado, nebulización, enjuague, absorción o goteo. El sistema de solvatación deseablemente también se puede eliminar fácilmente del sitio de tratamiento por posterior enjuague, aclarado, drenado o absorción. Mientras no se quiere estar unido a ninguna teoría, el agente secuestrante de iones metálicos puede acomplejar, unir o amarrar de otra manera iones metálicos que pueden entrecruzar, formar puentes o ayudar de otra manera en unir las cadenas

de polímeros en una matriz de exopolisacárido o polisacárido extracelular. El agente de solvatación puede después rodear las cadenas o fragmentos de polímero sin unir, rompiendo la matriz, solvatando las cadenas o fragmentos de polímeros sin unir, y llevándolos a solución o suspensión donde se pueden enjuagar fácilmente o eliminar de otra manera de los tejidos o estructuras del oído medio u oído interno tratados usando, por ejemplo, cantidades adicionales del sistema de solvatación o un agente de aclarado separado.

El agente secuestrante de iones metálicos deseablemente es un ácido suave cuya acidez es suficiente para secuestrar uno o más iones metálicos en la matriz de exopolisacárido o polisacárido extracelular, pero que no es tan ácido como para dañar el tejido tratado. Los iones metálicos de interés particular (debido a su probable implicación en las películas bacterianas diana) incluyen sodio, calcio y hierro. El agente secuestrante de iones metálicos deseablemente es soluble en agua, no tóxico, y si se usa en el oído no es propenso a agravar la pérdida de audición a largo plazo. Los ácidos representativos incluyen, pero no están limitados a ácidos, diácidos, o triácidos carboxílicos tal como ácido fórmico, ácido acético, ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido oxálico, ácido oxámico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido aspártico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido iminodiacético, ácido glutárico, ácido 2-cetoglutarico, ácido glutámico, ácido adípico, ácido cítrico, ácido glucurónico, ácido mícico, ácido nitriloacético, ácido salicílico, ácido cetopimélico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido cloromandélico, ácido fenilacético, ácido ftálico y ácido bórico; ácidos minerales tal como ácido clorhídrico, ácido ortofosfórico y ácido fosfónico; y mezclas de los mismos. El ácido cítrico es un ácido preferido. El agente secuestrante de iones metálicos puede, por ejemplo, estar presente a una concentración de al menos aproximadamente 0,01 M, al menos aproximadamente 0,05 M o al menos aproximadamente 0,1 M, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 0,5 M, de aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 0,4 M o de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. Cantidades crecientes del agente secuestrante de iones metálicos pueden fomentar la ruptura más rápida de la biopelícula.

El sistema de solvatación también incluye un tensioactivo. El tensioactivo deseablemente es soluble en agua y no tóxico. Los tensioactivos ejemplares incluyen tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos, tensioactivos catiónicos y tensioactivos dipolares. Los tensioactivos aniónicos ejemplares incluyen, pero no están limitados a sulfonatos de alquilbenceno de C₆-C₂₄; sulfonatos de olefina de C₆-C₂₄; sulfonatos de parafina de C₆-C₂₄; sulfonato de cumeno; sulfonato de xileno; sulfonatos de alquilnaftaleno de C₆-C₂₄; sulfonatos o disulfonatos de alquil o dialquil de C₆-C₂₄ difenil éter, sulfosuccinatos de mono o dialquil de C₄-C₂₄; ácidos grasos sulfonados o sulfatados; sulfatos de alcohol de C₆-C₂₄ (por ejemplo, sulfatos de alcohol de C₆-C₁₂); sulfatos de éter de alcohol de C₆-C₂₄ que tienen de 1 a aproximadamente 20 grupos de óxido de etileno; ésteres de fosfato de alquilo, arilo o aralquilo de C₄-C₂₄ o sus análogos alcoxilados que tienen de 1 a aproximadamente 40 unidades de óxido de etileno, propileno o butileno; y mezclas de los mismos. Por ejemplo, el tensioactivo aniónico puede ser quenodesoxicolato de sodio, sal sódica de N-laurilsarcosina, dodecil sulfato de litio, sal sódica del ácido 1-octanosulfónico, colato de sodio hidrato, desoxicolato de sodio, dodecil sulfato de sodio (también conocido como lauril sulfato de sodio) o glicodesoxicolato de sodio.

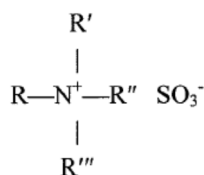
Los tensioactivos catiónicos ejemplares incluyen, pero no están limitados a compuestos de amina cuaternaria que tiene la fórmula:



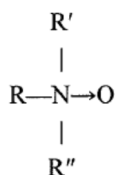
en donde R, R', R'' y R''' son cada uno un grupo alquilo, arilo o aralquilo de C₄-C₂₄ que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos P, O, S o N, y X es F, Cl, Br, I o un sulfato de alquilo. Por ejemplo, el tensioactivo catiónico puede ser cloruro de hexadecilpiridinio monohidrato o bromuro de hexadeciltrimetilamonio.

Los tensioactivos no iónicos ejemplares incluyen, pero no están limitados a, etoxilatos de alcohol de C₆-C₂₄ (por ejemplo, etoxilatos de alcohol de C₆-C₁₄) que tienen de 1 a aproximadamente 20 grupos de óxido de etileno (por ejemplo, de aproximadamente 9 a aproximadamente 20 grupos óxido de etileno); etoxilatos de alquilfenol de C₆-C₂₄ (por ejemplo, etoxilatos de alquilfenol de C₈-C₁₀) que tienen de 1 a aproximadamente 100 grupos de óxido de etileno (por ejemplo, de aproximadamente 12 a aproximadamente 20 grupos óxido de etileno); alquilpoliglucósidos de C₆-C₂₄ (por ejemplo, alquilpoliglucósidos de C₆-C₂₀) que tienen de 1 a aproximadamente 20 grupos glucósidos (por ejemplo de aproximadamente 9 a aproximadamente 20 grupos glucósidos); etoxilatos, propoxilatos o glicéridos de ésteres de ácidos grasos de C₆-C₂₄; mono o dialcanolamidas de C₄-C₂₄; y mezclas de los mismos. Por ejemplo, el tensioactivo no iónico puede ser polioxietilenglicol dodecil éter, N-decanoil-N-metilglucamina, digitonina, n-dodecil B-D-maltósido, octil B-D-glucopiranosido, etoxilato de octilfenol, polioxietileno (8) isooctil fenil éter, monolarato sorbitano de polioxietileno o monooleato sorbitano de polioxietileno (20).

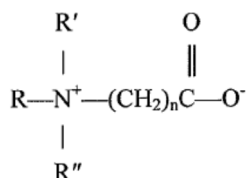
Los tensioactivos dipolares ejemplares incluyen, pero no están limitados, compuestos de sulfonato de aminoalquilo que tienen la fórmula:



donde R, R', R'' y R''' son cada uno un grupo alquilo, arilo o aralquilo de C₁-C₂₄ que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos P, O, S o N; compuestos de óxido de amina que tienen la fórmula:



donde R, R', y R'' son cada uno un grupo alquilo, arilo o aralquilo de C₁-C₂₄ que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos P, O, S o N; y compuestos de betaína que tienen la fórmula:



donde R, R', y R'' son cada uno un grupo alquilo, arilo o aralquilo de C₁-C₂₄ que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos P, O, S o N, y n es de aproximadamente 1 a aproximadamente 10. Por ejemplo, el tensioactivo dipolar puede ser sulfonato de 3-[(3-colamidopropil) dimetilamonio]-2-hidroxi-1-propano, sulfonato de 3-[(3-colamidopropil) dimetilamonio]-1-propano (algunas veces denominado CHAPS), propanosulfonato de 3-(decildimetilamonio) sal interna (algunas veces denominado caprililsulfobetaina), o N-dodecil-N,N-dimetil-3-amonio-1-propanosulfonato.

Los tensioactivos preferidos incluyen sulfatos de alquilo, sulfonatos de alquilo, sulfonatos de arilo y tensioactivos dipolares. Los tensioactivos deseados se puede obtener como compuestos puros o en algunos casos se pueden obtener usando productos tal como jabón líquido Castile. El tensioactivo puede, por ejemplo, estar presente en una concentración de al menos aproximadamente 0,002 M, al menos aproximadamente 0,005 M o al menos aproximadamente 0,01 M, por ejemplo, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,7 M o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 M. Expresado en base a peso, en algunas formas de realización el tensioactivo preferiblemente es mayor del 0,2% en peso del sistema de solvatación y puede, por ejemplo, ser desde aproximadamente el 0,3% a aproximadamente el 30%, de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 25% o de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 20% del sistema de solvatación. Cantidades aumentadas de tensioactivo pueden fomentar la ruptura más rápida de biopelículas.

El sistema de solvatación puede opcionalmente incluir una variedad de otros ingredientes, incluyendo agua y otros solventes (por ejemplo, alcoholes), agentes tamponantes, agentes antimicrobianos y una variedad de adyuvantes. El sistema de solvatación contiene agua y uno o más agentes tamponantes. El agente tamponante mantiene el sistema de solvatación a un pH apropiado para entrar en contacto con tejido humano, es decir, a un pH mayor de 5. Por ejemplo, el sistema de solvatación puede estar tamponado para tener un pH casi neutro, por ejemplo, un pH mayor de 5 y menor de 8,5. Los agentes tamponantes pueden ser, por ejemplo, hasta aproximadamente el 25% del sistema de solvatación. Los agentes tamponantes ejemplares incluyen, pero no están limitados a, cloruro de potasio, glicina, hidrogenofalato de potasio, acetato de sodio, hidrogenofalato de potasio, barbitol sódico y citrato de sodio. Cuando el agente secuestrante de iones metálicos es un ácido suave, el agente tamponante deseablemente es una sal de ese ácido.

Los sistemas de solvatación que contienen uno o más agentes antimicrobianos también son preferidos. La matriz de EPS permite que la biopelícula se pegue a una superficie subyacente y también protege los organismos embebidos; por tanto, las bacterias en biopelículas son aproximadamente de 100 a 1000 veces más resistentes a los efectos de antibióticos que las bacterias planctónicas. Después de que la biopelícula se haya roto en polímeros o fragmentos sin unir y solvatado o desorganizado de otra manera por el sistema de solvatación, un agente antimicrobiano puede atacar de forma mucho más eficaz las bacterias restantes. Los agentes antimicrobianos ejemplares incluyen

compuestos de oxígeno activo tal como peróxido de hidrógeno, perácidos aislados o derivados de equilibrio o aislados tal como ácido cloroperbenzoico, ácido peracético, ácido perheptanoico, ácido peroctanoico, ácido perdecanoico, ácido perfórmico, ácido percítrico, ácido perglicólico, ácido perláctico, ácido perbenzoico, y perácidos monoéster derivados de diácidos o diésteres tal como ácido adípico, succínico, glutárico o malónico; aminoglucósidos; anfenicoles; ampicilinas; ansamicinas; beta-lactamas tal como carbacefemos, carbapenemos, cefalosporinas, cefamicinas, monobactamas, oxacefemos, penicilinas y cualquiera de sus derivados; ésteres carboxílicos tal como benzoatos de p-hidroxi alquilo y cinamatos de alquilo; sales de quitosano; lípidos de fase cúbica; agentes antimicrobianos que contienen galio tal como acetilacetato de galio, bromuro de galio, cloruro de galio, fluoruro de galio, yoduro de galio, maltolato de galio, nitrato de galio, nitrato de galio, percolato de galio, fosfuro de galio y sulfato de galio; compuestos de yodo y otros compuestos de halógeno activo tal como yodo, interhaluros, polihaluros, hipocloritos metálicos, ácido hipocloroso, hipobromitos metálicos, ácido hipobromoso, cloro- y bromo-hidantoínas, dióxido de cloro y clorito de sodio; lincosamidas; macrólidos; nitrofuranos; peróxidos orgánicos, incluyendo o-fenil fenol, o-bencil-p-clorofenol, tert-amil fenol y benzoatos de hidroxi alquilo de C₁-C₆; compuestos de amonio cuaternario tal como cloruro de alquildimetilbencil amonio y cloruro de dialquildimetil amonio; quinolinas; generadores de oxígeno singlete; sulfonamidas; sulfonas; ácidos sulfónicos tal como ácido dodecylbencenosulfónico; antibióticos tetraciclinas tal como tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina, demecociclina, doxiciclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, metociclina, minociclina, y similares; vancomicina; derivados de los mismos y mezclas de los mismos. Muchos de estos agentes enumerados representan clases que contienen materiales específicos útiles cuya utilidad individual reconocerán los expertos en la materia. Por ejemplo, las penicilinas ejemplares incluyen, pero no están limitadas a, amdinociclina, amdinociclina pivoxil, amoxicilina ampicilina, apalciclina, asposiciclina, axidociclina, azlociclina, acampiciclina, bacampiciclina, ácido bencilpenicilínico, bencilpenicilina sódica, carbenicilina, carindaciclina, clometociclina, cloxacilina, ciclaciclina, dicloxacilina, epiciclina, fenbenicilina, floxacilina, hetaciclina, lenampicilina, metampicilina, meticiclina sódica, mezlociclina, nafcilina sódica, oxaciclina, penameciclina, yodhidrato de penetamato, penicilina G benetamina, penicilina G benzatina, penicilina G benzhidrilamina, penicilina G cálcica, penicilina G hidrabamina, penicilina G potásica, penicilina G. procaína, penicilina N, penicilina O, penicilina V, penicilina V banzatina, penicilina V hidrabamina, penimepiciclina, feneticiclina potásica, piperaciclina, pivampiciclina propiciclina, quinaciclina, sulbeniciclina, sultamiciclina, talampiciclina, temociclina, ticarciclina y mezclas de mismas o con otros materiales (por ejemplo, penicilinas combinadas con ayuda de ácido clavulánico tal como la combinación de amoxicilina y ácido clavulánico disponible como AUGMENTIN™ de GlaxoSmithKline).

Preferiblemente el agente antimicrobiano proporciona más de una reducción numérica del 99% (viz., al menos una reducción de orden 2 log), más de una reducción numérica del 99,9% (viz., al menos una reducción de orden 3 log), más de una reducción numérica del 99,99% (viz., al menos una reducción de orden 4 log), o más de una reducción numérica del 99,999% (viz., al menos una reducción de orden 5 log) en una población de una o más bacterias *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* o *M. catarrhalis* usando el procedimiento de recuento de placas bacterianas descrito posteriormente en los ejemplos.

El sistema de solvatación puede contener agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos ejemplares incluyen cualquier material adecuado para uso otológico, rinológico o faríngeo incluyendo analgésicos, anticolinérgicos, agentes antifúngicos, antihistaminas, productos sanguíneos, agentes antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos, agentes antiparasitarios, agentes antivirales, composiciones biostáticas, agentes quimioterapéuticos/antineoplásicos, citoquinas, descongestionantes, inmunosupresores, mucolíticos, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, esteroides, vasoconstrictores, vitaminas, mezclas de los mismos, y otros materiales terapéuticos que serán aparentes para los expertos en la materia. Otros adyuvantes que se pueden incluir en el sistema de solvatación incluyen tintes, pigmentos y otros colorantes (por ejemplo, FD & C Red No. 3, FD & C Red No. 20, FD & C Yellow No. 6, FD & C Blue No. 2, D & C Green No. 5, D & C Orange No. 4, D & C Red No. 8, caramelo, dióxido de titanio, colorantes de frutas u hortalizas tal como polvo de remolacha o beta-caroteno, cúrcuma, pimentón y otros materiales que serán familiares a los expertos en la materia); indicadores; agentes saborizantes o edulcorantes incluyendo, pero no limitados a, aceite de anís, cereza, aceite de canela, aceite de cítrico (por ejemplo, aceite de limón, lima o naranja), cacao, eucalipto, aromáticos de hierbas (por ejemplo, aceite de clavo, aceite de salvia o aceite de cassia), lactosa, maltosa, mentol, aceite de menta, sacarina, ciclamato sódico, aceite de hierbabuena, sorbitol, sacarosa, vainillina, aceite de gaulteria, xilitol y mezclas de los mismos; antioxidantes; agentes antiespumantes; y modificadores de reología incluyendo espesantes y tixotropos.

El sistema de solvatación deseablemente se aplica en al menos una cantidad y espesor suficiente para cubrir la parte deseada de la biopelícula. Puede ser, por ejemplo, conveniente localizar o hacer una abertura adecuada cerca del sitio de tratamiento (por ejemplo, una miringotomía para algunos tratamientos en el oído medio) de modo que se pueda empujar un catéter, cánula, jeringa, introductor u otro conducto apropiado para la administración del sistema de solvatación a través de la abertura. Si se desea tratamiento en el oído interno, se puede hacer una abertura de acceso adicional asimismo como se ha indicado anteriormente. El sistema de solvatación se puede aplicar al tejido diana y a una biopelícula diana contenida en el mismo o sobre el mismo de modo que la biopelícula y sus organismos se desorganizan, solvatan y posteriormente se eliminan. El tratamiento puede implicar dilución química o desorganización mecánica. Por ejemplo, el sistema de solvatación se puede aplicar con el cuidado apropiado como un spray presurizado para desalojar la biopelícula bacteriana, bacterias y acumulación de otros cuerpos exógenos en el sitio de tratamiento. Esto puede estar acompañado por la rotura de la matriz de EPS de la biopelícula mediante

el secuestro de iones calcio por el agente secuestrante de iones metálicos, y por solvatación de los fragmentos de la rotura resultantes (por ejemplo, ácidos manurónico y gularónico) en solución acuosa de modo que se facilite su eliminación final usando aspiración, lavado u otras técnicas de eliminación realizadas a través de la miringotomía o a través de la trompa de Eustaquio, nariz o boca. Puede ser deseable inyectar suficiente sistema de solvatación en el área de tratamiento para desplazar cualquier pus u otro material que pueda estar presente, permitiendo que el material excedente se desborde desde el área de tratamiento hasta que el color del material excedente ya no cambie más. El sistema de solvatación se puede dejar en el sitio hasta que se pueda drenar o se elimine de otra manera o se resorba, o el sistema de solvatación se puede dejar reposar durante un tiempo adecuado (por ejemplo, unos pocos minutos, unas pocas horas o más) y después se puede enjuagar usando solución salina u otro líquido adecuado. El sistema de solvatación preferiblemente se aplica directamente al sitio de tratamiento, ya que tal aplicación directa puede fomentar la rotura más rápida de la biopelícula. Por ejemplo, para procedimientos realizados en el oído medio o interno la solución de solvatación preferiblemente se aplica directamente en la región del oído medio o interno más que simplemente aplicarla al canal del oído y dejar que se transporte a través de la membrana timpánica. La aplicación del sistema de solvatación y la eliminación de la biopelícula desplazada o desorganizada y bacterias también se puede repetir según se desee para asegurar eliminación exhaustiva de los organismos causantes.

El sistema de solvatación se puede usar deseablemente como parte de una pauta de tratamiento de etapas múltiples que desorganiza la biopelícula bacteriana y desalienta su vuelta. Por ejemplo, se pueden llevar a cabo una serie de etapas que se pueden clasificar en sentido amplio como limpieza/disgregación, destrucción, protección/recubrimiento, aireación y curación. La etapa de limpieza/disgregación se puede llevar a cabo administrando el sistema de solvatación como se ha descrito anteriormente. La etapa de destrucción se puede llevar a cabo aplicando un agente antimicrobiano adecuado al sitio de tratamiento. Esto, por ejemplo, se puede lograr incluyendo un agente antimicrobiano en el sistema de solvatación o aplicando por separado tal agente intraoperativamente o posoperativamente (por ejemplo, por vía tópica, oral o sistémica). La etapa de protección/recubrimiento se puede llevar a cabo recubriendo al menos parte del tejido así tratado con una capa selladora protectora. El sellador puede proporcionar una variedad de beneficios tal como desalentar o prevenir la recolonización de la superficie del tejido con bacterias y nuevas colonias que forman biopelícula; reducir la inflamación; mejorar la cicatrización o permitir la recuperación de la respuesta inmunitaria innata natural del cuerpo. El sellante puede incluir uno o más agentes antimicrobianos para atacar adicionalmente cualquier biopelícula bacteriana, fragmentos de biopelícula o bacterias que permanecen después de la etapa de limpieza/disgregación descrita anteriormente. La etapa de aireación se puede llevar a cabo conservando o formando una abertura o abertura(s) adecuada(s) (por ejemplo, un corte en la membrana timpánica, o una abertura en vías nasales ocluidas o parcialmente ocluidas, senos o abertura sinusal) y dejándola(s) abierta(s) durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la aireación del sitio de tratamiento. El periodo de tiempo puede estar afectado por la naturaleza de la(s) abertura(s) y por tratamientos de los oídos por si un tubo de timpanostomía se instala o no. Por ejemplo, si se ha formado un corte en la membrana timpánica y no se coloca un tubo en la abertura entonces el corte puede permanecer abierto durante unos pocos días y cicatrizar, cerrando de esta manera el espacio del oído de forma natural. El paso de curación se puede llevar a cabo dejando que la superficie del tejido limpiada, protegida y sellada experimente un regreso a un estado normal, por ejemplo, mediante uno o más mecanismos de cicatrización tal como modulación de la respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelado de la mucosa, reciliación o restauración completa o parcial de la audición o equilibrio normal.

La invención se ilustra adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1

Se recuperaron aislados bacterianos de bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa* de senos de pacientes con trastornos de senos. Se excluyeron pacientes con fibrosis quística o una enfermedad inmunosupresora subyacente (infección por VIH, diabetes mellitus dependiente de insulina o enfermedad renal) y pacientes que habían tomado antibióticos o prednisona oral el mes previo. Todos los pacientes tenían sinusitis resistente, es decir, síntomas persistentes resistentes a terapia médica a pesar de haber experimentado cirugía de senos endoscópica funcional (FESS) técnicamente exitosa para rinosinusitis crónica (RSC) resistente con o sin poliposis nasal. La aparición de RSC se diagnosticó según las directrices de 2003 de American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery (AAO-HNS) presentadas en Benninger et al., "Adult chronic rhinosinusitis: Definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology", *Otolaryngol Head Neck Surg* 129(3 suppl):S1-S32 (2003). Los pacientes seleccionados habían sido resistentes a terapia médica durante más de 12 meses antes de la recogida de muestras, y el fracaso de FESS se juzgó que no estaba asociado con factores técnicos tal como sinequia obstructiva, obstrucción de seno frontal, o una protuberancia uncinada retenida. Las muestras se recogieron consecutivamente hasta que se obtuvieron 10 especímenes de cada uno de *S. aureus* y *P. aeruginosa* usando guía endoscópica directa y el procedimiento descrito por Nadel et al., "Endoscopically guided cultures in chronic sinusitis", *Am J Rhinol* 12:233-241 (1998). Brevemente, se administró un agente anestésico tópico, el ala nasal se retrajo, y se usó un endoscopio para visualizar el meato medio y las cavidades sinusales. Se insertó un hisopo de alginato de calcio flexible, fino (Sistema de recogida y transporte STARSWAB II™, Starplex Scientific, Etobicoke, Ontario) y se dirigió al sitio con la mayor purulencia. Si no se observó purulencia, la superficie del seno maxilar se limpió durante 15 segundos. Se tuvo cuidado para evitar el contacto con la pared nasal lateral o el vestíbulo nasal. Las muestras se sembraron en placa e

incubaron usando procedimientos estándar. Se identificaron las bacterias usando un sistema VITEK 2™ (Biomérieux, Durham, NC). Se realizó tinción con violeta cristal para confirmar la presencia de biopelículas según el método descrito por Stepanovic et al., "A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation", J Microbiol Methods 40:175-179 (2000). Para la incubación y cultivo, cepas previamente congeladas se

Se usó un reactor de flujo por goteo (DFR) para determinar la eficacia de varias soluciones de prueba administradas a biopelículas de *S. aureus* y *P. aeruginosa* en portaobjetos de microscopio recubiertos con hidroxiapatita (HA) para eliminar estas biopelículas bacterianas con y sin fuerza hidrodinámica. Los portaobjetos en el DFR se inclinan 10° del horizontal, modelando de esta manera un medio de baja cizalla. El DFR se alojó en un incubador a 37°C en condiciones aerobias. Aproximadamente 20 minutos antes de la inoculación bacteriana, se dejó caer medio estéril (TSB al 10% para *S. aureus*; TSB al 1% para *P. aeruginosa*) en los portaobjetos en el DFR y se dejó recoger sobre los portaobjetos para formar una capa de acondicionamiento. Los portaobjetos se inocularon después con 1 ml de un cultivo de *S. aureus* o *P. aeruginosa*. El DFR se inclinó de modo que los portaobjetos estuvieran horizontales durante 4 horas para permitir la unión bacteriana al sustrato. Posteriormente, el DFR se ajustó de modo que los portaobjetos estuvieran otra vez en un ángulo de 10°, goteando medio estéril en los portaobjetos a una velocidad de 10 ml por hora. Después de 3 días, se realizaron experimentos de eliminación de biopelículas. Se usaron dos métodos para tratar las biopelículas formadas por cada especie bacteriana. El primer método de aplicación implicaba un tratamiento estático en el DFR, goteando un agente de solvatación (denominado CAZS) sobre las biopelículas. El agente de solvatación CAZS contenía agua desionizada, ácido cítrico 25 g/l (correspondiente a 0,13 M), tensioactivo dipolar caprilsulfobetaina ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3^-$, CAS 15163-36-7) 5,35 g/l (correspondiente a 0,02 M) y suficiente citrato de sodio (aproximadamente 240 g/l) para tamponar el sistema a pH 5,4. El segundo método de aplicación implicaba la administración de solución salina o administración de CAZS fuera de DFR, usando un lavado a chorro presurizado para aplicar una fuerza de cizalla hidrodinámica a la biopelícula. Para todos los tratamientos, se hicieron carreras preliminares para asegurar que las variaciones entre los portaobjetos estaban dentro de límites aceptables. Además, se produjeron múltiples placas de ambas especies bacterianas para determinar las variaciones dentro de la carrera y de carrera a carrera. Se hizo un portaobjetos control para cada carrera de DFR. Se evaluaron tres carreras para cada tratamiento de cada tipo de bacteria.

Para el tratamiento estático, el flujo al DFR se paró, el DFR se colocó en una posición horizontal, y la cubierta se retiró. Una porción de 25 ml de CAZS se aplicó a un portaobjetos. Los portaobjetos control no se trataron con CAZS. Después de 10 minutos, los portaobjetos se enjuagaron con solución salina (25 ml). El DFR se desconectó después del tubo de entrada, y cada portaobjetos se retiró debajo de una campana de flujo laminar y se colocó en un tubo estéril de 50 ml. Después de otro enjuague con solución salina (2 ml), la superficie del portaobjetos se raspó repetidamente, y los raspados y solución salina se recogieron en el tubo. El tubo se agitó con vórtex durante 10 segundos, se sonicó durante 2 minutos, y de agito con el vórtex otra vez durante 10 segundos para dispersar las bacterias en suspensión. Las suspensiones se diluyeron en serie después y se aplicaron alícuotas de 100 µl a tres placas que contenían TSA y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) manualmente, y se calculó el número de UFC por centímetro cuadrado. Los recuentos de placas resultantes se transformaron logarítmicamente (10) y se expresaron como el valor medio ($\pm$ DE) derivado de recuentos de placas de dos carreras de DFR de tres portaobjetos cada una.

Para el tratamiento hidrodinámico, los portaobjetos se retiraron del DFR y se colocaron en una caja de guantes. Los portaobjetos se colocaron en un soporte y se rociaron durante aproximadamente 20 segundos con aproximadamente 150 ml de solución salina o CAZS usando un dispositivo que proporciona lavado a chorro presurizado. El rociado se hizo con un movimiento de barrido tanto de lado a lado como arriba y abajo de modo que todas las áreas se rociaron dos veces, una en cada eje. Los portaobjetos se colocaron después en tubos estériles de 50 ml, se enjuagaron, rasparon, dispersaron, incubaron y evaluaron como se ha descrito anteriormente.

Se calculó la reducción en porcentaje media ($\pm$ DE) de los valores control en la cantidad de bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa* (viz., el número de UFC en cada placa) después de cada tratamiento y los resultados se evaluaron usando pruebas de la t de dos muestras (MINITAB™ versión 14, Minitab, State College, PA). Un valor P menor de 0,05 se consideró que representaba una diferencia significativa del valor control. Los resultados se muestran a continuación en la tabla 1, expresados como el número medio ($\pm$ DE) de unidades formadoras de colonias por centímetro (log) derivado de tres placas evaluadas dos veces:

Tabla 1
Recuentos log de placas bacterianas según el tipo de tratamiento

Tratamiento	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Ninguno (control)	8,7 $\pm$ 0,4	9,2 $\pm$ 0,2
Administración de CAZS estática	6,2 $\pm$ 0,3	6,3 $\pm$ 1,3
Administración de solución salina	6,4 $\pm$ 0,2	6,9 $\pm$ 0,1

hidrodinámica		
Administración de CAZS hidrodinámica	4,8 ± 0,3	4,0 ± 0,5

Los resultados en la tabla 1 muestran que se obtuvo eliminación de biopelícula bacteriana significativa. Antes del tratamiento, se formaron abundantes biopelículas en los cultivos de DFR tanto de *S. aureus* como de *P. aeruginosa*, con recuentos para estos controles que variaban desde 7,8 a 9,5 log/cm². La administración estática de CAZS produjo una reducción de 2,5 log (de 5,11 x 10⁸ a 1,65 x 10⁶; P=0,001) en el número de UFC de *S. aureus* y una reducción de 2,9 log (de 1,69 x 10⁹ a 1,91 x 10⁶; P=0,002) en el número de UFC de *P. aeruginosa*. La desorganización mecánica usando administración de solución salina hidrodinámica sola disminuyó el número de UFC de *S. aureus* en 2,3 unidades log (de 5,11 x 10⁸ a 2,38 x 10⁶; P=0,001) y el número de UFC de *P. aeruginosa* en 2,4 unidades log (de 1,69 x 10⁹ a 7,31 x 10⁶; P=0,001). Sin embargo, la desorganización mecánica usando CAZS hidrodinámico disminuyó el recuento de UFC de *S. aureus* en 3,9 unidades log (de 5,11 x 10⁸ a 6,37 x 10⁴; P=0,001) y el recuento de UFC de *P. aeruginosa* en 5,2 unidades log (de 1,69 x 10⁹ a 1,04 x 10⁴; P=0,001).

Se realizó microscopía laser de barrido confocal (CSLM) en tres portaobjetos (para cada tratamiento y especie bacteriana) no sometidos a recuentos de placas para permitir la imagenología de la arquitectura de la biopelícula en muestras control y tratadas. Los portaobjetos se tiñeron para CSLM usando un kit BACLIGHT™ Live/Dead (Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad, CA) que contenía dos tintes de ácido nucleico (SYTO 9, que detecta células vivas por verde fluorescente, y yoduro de propidio, que detecta células muertas por rojo fluorescente). Después de teñir, los portaobjetos se examinaron usando CSLM a 630X aumentos usando un separador de haz acústico-óptico con una unión de 2 fotones MAI TAI™ (Leica Microsystems, Bannockburn, IL) y excitación y detección de fluorescencia tanto en el espectro verde como rojo. Cada área del portaobjetos se dividió en 10 segmentos de igual tamaño. Se seleccionó un campo microscópico al azar de cada segmento y se obtuvieron imágenes a intervalos de 1 µm desde la parte superior de la biopelícula hasta el sustrato, creando de esta manera una pila de imágenes para cada localización. El análisis por CSLM reveló que una biopelícula gruesa alfombraba los portaobjetos control. El tratamiento hidrodinámico con solución salina y el tratamiento estático con CAZS disminuyeron la cantidad de cobertura de biopelícula marcadamente y redujeron la organización de la biopelícula restante. El tratamiento hidrodinámico con CAZS produjo una reducción mayor tanto en la cobertura de biopelícula como en la cantidad de orden en la comunidad de la biopelícula. Los resultados correspondían en general a las evaluaciones de recuento de placas con respecto a las reducciones relativas en la cantidad de biopelícula alcanzada con cada tratamiento.

De los tres tratamientos investigados, la irrigación en polvo usando CAZS y un lavado a chorro presurizado era el más eficaz en desorganizar las biopelículas bacterianas. La irrigación en polvo usando solución salina tenía efectos reductores de biopelícula apreciables. Sin embargo, la presencia de un tensioactivo y ácido cítrico en la solución de irrigación aumentó significativamente la reducción en el recuento de UFC en biopelículas tanto de *S. aureus* como de *P. aeruginosa*. Se produjeron reducciones grandes, estadísticamente significativas, siendo los descensos medios en recuentos de placas bacterianas 3,9 y 5,2 log (una reducción de 10.000 a 100.000 veces), respectivamente, para biopelículas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Una disminución de esta magnitud *in vitro* indica que un tratamiento *in vivo* apropiado en el oído medio o interno, cavidades nasales o sinusales, o tejidos bucal o faríngeo debe desorganizar eficazmente las biopelículas bacterianas encontradas allí. Cualquier nivel bajo restante de infección bacteriana persistente debe ser resuelto por las defensas del huésped o un agente antimicrobiano administrado por vía tópica u oral, y por aplicación de un sellante como se ha descrito anteriormente.

Ejemplo 2

El sistema de solvatación CAZS empleado en el ejemplo 1 se modificó sustituyendo parte del agua con nitrato de galio de modo que el sistema modificado contenía nitrato de galio al 25%. También se preparó una solución control que contenía nitrato de galio al 25% en agua desionizada. Cuando se evaluó usando la técnica de tratamiento estático del ejemplo 1, la administración de la solución control de nitrato de galio produjo una reducción de 3,4 log (media de 4 carreras) en el número de UFC de *S. aureus* y una reducción de 4,1 log (media de 3 carreras) en el número de UFC de *P. aeruginosa*. La administración estática de la solución que contenía CAZS y nitrato de galio produjo una reducción de 5,2 log (media de 2 carreras) en el número de UFC de *S. aureus* y una reducción de 5,5 log (media de 2 carreras) en el número de UFC de *P. aeruginosa*.

Aunque se han ilustrado y descrito formas de realización específicas en el presente documento para fines de descripción de las formas de realización preferidas, los expertos en la materia apreciarán que una amplia variedad de implementaciones alternativas o equivalentes calculadas para alcanzar los mismos fines se puede sustituir para las formas de realización específicas mostradas y descritas sin separarse del ámbito de la presente invención. Se pretende que esta solicitud cubra cualquier adaptación o variación de las formas de realización preferidas discutidas en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema de solvatación que comprende un agente secuestrante de iones metálicos, suficiente tampón de modo que el pH sea mayor de 5, y más del 0,2% en peso de un tensioactivo que puede separar, eliminar o desorganizar de otra manera al menos una parte de una biopelícula unida o adherida a al menos una porción del oído medio o interno, a una superficie en una cavidad nasal o sinusal, o a tejido bucal o faríngeo, para uso en el tratamiento de afecciones bacterianas del oído, nariz o garganta en las que el sistema de solvatación se va a aplicar a la biopelícula.
2. Un sistema de solvatación que comprende (a) un agente secuestrante de iones metálicos, (b) un tensioactivo dipolar que puede separar, eliminar o desorganizar de otra manera al menos una parte de una biopelícula unida o adherida a al menos una porción del oído medio o interno, a una superficie en una cavidad nasal o sinusal, o a tejido bucal o faríngeo, y (c) suficiente tampón para proporcionar un pH mayor de 5, para uso en el tratamiento de afecciones bacterianas del oído, nariz o garganta en las que el sistema de solvatación se va a aplicar a la biopelícula.
3. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende un ácido suave cuya acidez es suficiente para secuestrar uno o más iones metálicos en la biopelícula bacteriana, pero que no es tan ácido como para dañar el oído medio o interno.
4. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende un agente secuestrante para sodio, calcio o hierro.
5. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende un ácido, diácido, triácido carboxílico o mezcla de los mismos.
6. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende ácido fórmico, ácido acético, ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido oxálico, ácido oxámico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido aspártico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido iminodiacético, ácido glutárico, ácido 2-cetoglutarico, ácido glutámico, ácido adípico, ácido glucurónico, ácido mícico, ácido nitriloacético, ácido salicílico, ácido cetopimélico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido cloromandélico, ácido fenilacético, ácido ftálico, ácido bórico o mezclas de los mismos.
7. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende ácido cítrico.
8. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos está presente a una concentración de 0,01 a 0,5 M.
9. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende un ácido suave y el agente tamponante comprende una sal de ese ácido.
10. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que tiene un pH menor de 8,5.
11. Un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que comprende además un agente antimicrobiano.
12. Un sistema de solvatación adecuado para desorganizar biopelículas bacterianas en tejido, el sistema comprende un agente secuestrante de iones metálicos, suficiente tampón de modo que el sistema de solvatación tenga un pH mayor de 5, más del 0,2% en peso de tensioactivo catiónico o dipolar, y un agente antimicrobiano.
13. Un sistema de solvatación para uso en desorganizar biopelículas bacterianas en tejido humano, el sistema comprende un agente secuestrante de iones metálicos, un tensioactivo dipolar, y suficiente tampón de modo que el sistema de solvatación tenga un pH mayor de 5.
14. Un sistema de solvatación según la reivindicación 12 o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 13 en donde el agente secuestrante de iones metálicos es como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7.
15. Un sistema de solvatación según la reivindicación 12 o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 13 que comprende un agente antimicrobiano que comprende una sal de quitosano, lípido en

fase cúbica, compuesto que contiene galio, éster carboxílico, ácido sulfónico, compuesto de halógeno activo, compuesto de oxígeno activo, peróxido orgánico, ozono, generador de oxígeno singulete, derivado fenólico o compuesto de amonio cuaternario.

- 5 16. Un sistema de solvatación o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 15 en donde el agente antimicrobiano comprende acetoacetato de galio, bromuro de galio, cloruro de galio, fluoruro de galio, yoduro de galio, maltolato de galio, nitrato de galio, nitruro de galio, percolato de galio, fosfito de galio, sulfato de galio o mezclas de los mismos.
- 10 17. Un sistema de solvatación según la reivindicación 12 o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 13 en donde el agente secuestrante de iones metálicos está presente en una concentración de 0,01 a 0,5 M.
- 15 18. Un sistema de solvatación según la reivindicación 12 o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 13 en donde el tensioactivo es del 0,5% al 25% del sistema de solvatación.
19. Un sistema de solvatación según la reivindicación 12 o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 13 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende un ácido suave, el tampón comprende una sal de ese ácido y el sistema de solvatación tiene un pH menor de 8,5.
- 20 20. Un sistema de solvatación según la reivindicación 12 o un sistema de solvatación para uso según la reivindicación 13 en donde el agente secuestrante de iones metálicos comprende ácido cítrico, y el agente antimicrobiano comprende un compuesto que contiene galio.

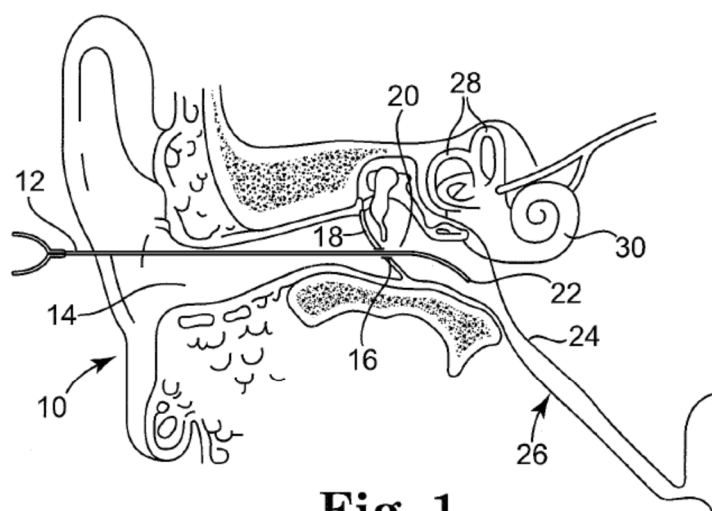


Fig. 1

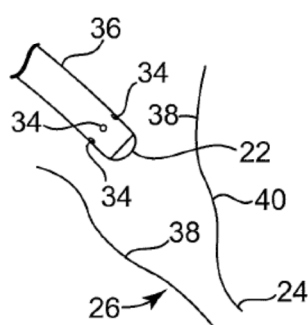


Fig. 2