

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 608**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 8/02</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/73</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/715</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/718</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/36</b>	(2006.01)
<b>C08G 63/91</b>	(2006.01)
<b>C11D 3/22</b>	(2006.01)
<b>C11D 17/00</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.05.2007 PCT/US2007/069677**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2007 WO07140267**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2007 E 07784116 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 2043590**

54 Título: **Composición germicida formadora de película de barrera para el control de la mastitis**

30 Prioridad:

**24.05.2006 US 439941**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.07.2019**

73 Titular/es:

**DELAVAL, INC (100.0%)  
11100 N. Congress  
Kansas City, MO 64153, US**

72 Inventor/es:

**UYTTERHAEGEN, LIEVEN;  
TRAISTARU, N. CAMELIA y  
AHMED, FAHIM U.**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 718 608 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Composición germicida formadora de película de barrera para el control de la mastitis

Antecedentes

**I. Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a composiciones y métodos para controlar la mastitis en los animales. Más particularmente, a una composición basada en polisacáridos modificados que forma una película de barrera que es útil para proteger las tetinas de los animales lácteos de infecciones microbianas de los canales de la leche. La eficacia de la barrera se puede mejorar aún más mediante la inclusión de agentes germicidas o agentes antimicrobianos.

**10 II. Descripción de la técnica relacionada**

Una de las principales causas de pérdida económica para los productores de leche es la incidencia de mastitis en vacas o animales de leche. Las pérdidas económicas anuales totales debidas a la mastitis son de aproximadamente 185 dólares por animal lechero. Esto totaliza aproximadamente 1,7 mil millones de dólares anuales para todo el mercado de Estados Unidos.

15 La mastitis suele ser causada por la infección de los conductos de la leche por microorganismos. Los casos graves de mastitis pueden causar la muerte de los animales lecheros. Los casos más leves de mastitis son más comunes, y pueden resultar en la pérdida de producción de leche junto con un aumento en el costo de la atención veterinaria para el productor lechero.

20 Los productores de leche tradicionalmente han adoptado dos enfoques para evitar que las vacas contraigan mastitis. Se pueden usar composiciones antimicrobianas para reducir el riesgo de infección. Una medida emplea agentes germicidas para matar los microbios. El otro enfoque utiliza una composición de formación de película persistente que se aplica a las tetinas bovinas como una barrera para impedir que los microbios entren en los conductos de la leche.

25 A pesar de la investigación y pruebas intensivas de una composición ideal que pueda proteger eficazmente a los animales de la mastitis, persisten muchos problemas. Aunque muchas composiciones pueden formar una capa de película sobre la piel de las tetinas, la película tiende a agrietarse durante el secado, dejando algunas áreas de la piel de la tetina desprotegidas. Algunas composiciones forman una capa de película sobre la piel que se lava demasiado fácilmente cuando entra en contacto con estiércol, lodo o agua. Otros materiales no se pueden eliminar con la suficiente facilidad y pueden ser una fuente de contaminación que complica el proceso de ordeñado y purificación de la leche. Además, algunos componentes formadores de película son incompatibles con los germicidas y otros ingredientes esenciales para las formulaciones, lo que resulta en una potencia reducida del germicida. Es difícil formular una película protectora que sea continua, uniforme, sin fragilidad, que persista entre 8 y 30 horas en las tetinas entre ordeñados, suave sobre la piel, que se elimine fácilmente al limpiarla antes del ordeñado y no gotee cuando se aplique.

35 El documento de patente de Estados Unidos US 5.063.249 otorgado a Andrews describe una inmersión de tetina que contiene derivados de dodecilaminolquilamina, un emoliente y poli(N-vinilpirrolidona) (o "PVP") como ingrediente formador de película. Sin embargo, el baño de tetina descrito en esta patente es muy fluido y, por lo tanto, es menos probable que se adhiera a la piel de las tetinas, ya que la formulación no es capaz de adherirse verticalmente a las tetinas con la fuerza suficiente para formar una película protectora de larga duración. Además, debido a la baja viscosidad y el goteo, el producto no forma una película protectora persistente.

40 Otro tipo de barrera utiliza celulosa como agente formador de barrera. El documento de patente de Estados Unidos N° 5.776.479 otorgado a Pallos et al. divulga una composición de inmersión de tetinas germicida que contiene un ingrediente formador de película seleccionado del grupo que consiste en hidroxietilcelulosa, metilhidroxipropilcelulosa y etilhidroxietilcelulosa. La composición también incluye un agente germicida, tal como el yodo, que se acompleja con un tensioactivo no iónico y agua para proporcionar una solución que tiene una viscosidad de aproximadamente 50 a 1000 cPs. Después de aplicarse a las tetinas de animales agrícolas, el líquido se seca para formar una película de barrera continua.

45 El documento de patente europea EP 896.521 B1 describe una mezcla formadora de barrera que usa un derivado de polisacárido de cadena más larga, tal como la metilcelulosa o hidroxietilcelulosa que está presente en una cantidad que varía del 10% al 20% de la composición en peso. La eficacia de este material de polisacárido se ve incrementada por el uso de un material sacárido de bajo peso molecular que puede ser, por ejemplo, un monosacárido o disacárido y puede incluir almidones hidrolizados, tal como la maltodextrina. Aunque el material de polisacárido y el material de sacárido no son excepcionalmente efectivos solos, se logra un efecto sinérgico cuando los materiales se usan en combinación de tal manera que el sacárido sinérgico de bajo peso molecular esté presente 55 en una cantidad que oscila entre el 2% y el 10% de la composición en peso, o aproximadamente del 20% al 50% de la cantidad de polisacárido.

5 El uso de derivados de celulosa y de derivados de celulosa basados en polisacáridos en composiciones de inmersión de tetinas presenta una serie de problemas. Las soluciones tienden a gotear después de la aplicación a las tetinas, y se desperdicia una cierta cantidad de producto. El goteo de las soluciones aplicadas también resulta en una película de barrera más delgada que no es ideal para el uso en animales lecheros. Es difícil formular composiciones de secado rápido ya que la celulosa es relativamente insoluble en disolventes volátiles de uso común, tales como los alcoholes de cadena corta.

10 El documento de patente de Estados Unidos N°. 6.030.633 otorgada a Hemling et al. describe una composición formadora de película para proteger a los animales lácteos de contraer mastitis durante el período seco de los animales lecheros. La composición incluye un componente formador de película, tal como una mezcla de poliéter, poliuretano y goma de benzoína, que se dispersa en un vehículo compatible y forma una película de barrera elástica cuando se aplica sobre la piel. La composición también contiene una pequeña cantidad de nitrocelulosa, para mejorar la adherencia de la película a la piel. La composición incluye además un germicida para matar microorganismos que rompan la barrera física.

15 El documento de patente de Estados Unidos US 5.139.771 divulga una composición de máscara facial útil en el tratamiento de la piel humana para su mejora, que comprende aproximadamente de 1 a 70% de un producto final de grano hidrolizado, aproximadamente de 0,1 a 15% de un derivado de algas y aproximadamente de 20 a 95% de agua. El derivado de algas, o sea un alginato, se usa en combinación con el producto final de grano hidrolizado para dar una composición de máscara facial con la consistencia deseada.

20 El documento de patente de Estados Unidos US 2007/077235 A1 divulga una composición y un método para tratar infecciones bacterianas con el uso de una cantidad eficaz de al menos una enzima lítica específica para la bacteria específica causante. La enzima lítica se codifica genéticamente con un bacteriófago que puede ser específico para dicha bacteria. La enzima puede ser al menos una proteína lítica de péptidos en forma natural o modificada.

25 Aunque los polisacáridos tales como la hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y los no polisacáridos tales como la polivinilpirrolidona, etc. se usan típicamente en combinación con agentes de barrera de película en recubrimientos de película acuosa, cuando se usan solos, a menudo producen una película inferior sobre las tetinas. Además, estos ingredientes son caros. Aunque los polisacáridos pueden ayudar a la formación de películas de alta calidad cuando se usan en combinación con otros agentes formadores de película, los formuladores buscan constantemente alternativas mejores y más eficientes para mejorar los recubrimientos o reducir el costo general de los recubrimientos.

30 Se ha avanzado mucho en la prevención de la incidencia de la mastitis, pero sigue existiendo la necesidad de una composición que no solo sea un germicida eficaz sino que también forme una película persistente, continua y uniforme como barrera física entre la piel del animal y los microorganismos en el entorno. También existe la necesidad de que tales películas se eliminen fácilmente para no contaminar la leche, mientras que también deben durar lo suficiente como para proteger de las bacterias entre ordeñados. La duración de la cobertura de la película es normalmente de 8 a 12 horas, pero ocasionalmente puede durar hasta 24 horas.

### Compendio de la invención

40 La invención se dirige a una composición para uso en el tratamiento de las tetinas de un animal y la prevención de la mastitis, capaz de formar una película de barrera duradera persistente, que comprende: a) de 0,1 a 20% en peso de material de polisacárido modificado o hidrolizado que tiene una cantidad mayoritaria de componente polisacárido que se determina sobre la base del material polisacárido total, seleccionado del grupo que consiste en el almidón, almidón modificado, almidón hidrolizado, y combinaciones de los mismos; b) de 0,02 a 30% en peso de al menos un agente activo antimicrobiano; y c) al menos un disolvente que constituye entre de 50% a 95% en peso de la composición, dicha composición tiene una viscosidad que varía de 100 cPs a 4000 cPs medido por un viscosímetro de Brookfield LV a temperatura ambiente (25° C) con un husillo #2 a 30 rpm. En un aspecto adicional, la invención abarca una composición para uso en el tratamiento de las tetinas de un animal para formar una película de barrera germicida protectora duradera persistente entre ordeñados en donde la composición se aplica en un método que comprende: ordeñar al animal; recubrir las tetinas con el producto de inmersión de tetinas después del ordeñado; y dejar que la composición se seque y forme una capa de película sobre dichas tetinas.

50 La presente divulgación supera los problemas descritos anteriormente y avanza en la técnica al proporcionar composiciones que son capaces de formar una película de barrera duradera, persistente, continua y uniforme de larga duración que se basa en polisacáridos modificados cuando se aplica a la piel. Las composiciones tienen una utilidad particular como inmersiones de tetinas de barrera que se usan profilácticamente contra la mastitis. El agente formador de película de barrera incluye polisacáridos de peso molecular relativamente bajo, por ejemplo, como pueden derivarse específicamente del almidón hidrolizado.

55 La composición se puede usar para el tratamiento profiláctico de las tetinas de un animal lechero para proporcionar una película protectora germicida persistente y de larga duración que demuestre persistencia entre ordeñados, y sea reproducible de manera controlable para producir una barrera persistente uniforme y continua. Este proceso de tratamiento implica ordeñar al animal, recubrir las tetinas con la composición después del ordeñado, permitiendo que

la composición se seque y así también formar una capa de película de barrera persistente en las tetinas. La composición puede aplicarse tópicamente con una brocha, espumación, inmersión o pulverización. Además, el uso de la composición no se limita al uso contra la mastitis, y la composición se puede usar generalmente para tratar o proteger contra cualquier afección infecciosa de la piel.

- 5 Una composición capaz de formar una película de barrera persistente, continua y uniforme puede contener de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20% en peso de material de polisacárido modificado o hidrolizado para usar como agente formador de barrera. El material de polisacárido tiene un componente de polisacárido mayoritario tal como el almidón, almidón modificado, almidón hidrolizado, un derivado de almidón y combinaciones de los mismos. La mayoría de los componentes de polisacáridos pueden tener un valor de Equivalencia de Dextrosa (DE) general o promedio que oscila entre 2 y 50, y este valor varía más preferiblemente de 3 a 27. En este sentido, el término "componente de polisacárido mayoritario" se usa para describir un porcentaje en peso mayoritario de todos los polisacáridos en la composición, es decir, más del 50% de todos los polisacáridos en la composición.

10 Como se describe a continuación, el uso de polisacáridos de almidón o almidón modificado con un valor de equivalencia de dextrosa (DE) adecuado para formar un material de barrera en formulaciones de inmersión de tetinas es un avance significativo en la técnica. En formulaciones particularmente preferidas, el componente de polisacárido mayoritario está presente en una cantidad que comprende al menos el 0,1% del peso de la composición, e incluso más preferiblemente esto es al menos el 1%.

15 El componente de polisacárido mayoritario puede ser almidón, almidón hidrolizado o almidón modificado, por ejemplo, dextrina, maltodextrina y combinaciones de los mismos. En otros aspectos, la cantidad total de material de polisacárido puede consistir esencialmente en el componente de polisacárido mayoritario diluido con menos del uno o dos por ciento de tales polisacáridos de cadena más larga como la celulosa o celulosa modificada en peso de la composición. Alternativamente, la cantidad total de material de polisacárido puede contener una cantidad minoritaria de tales polisacáridos de cadena más larga como la celulosa o componente de celulosa modificada.

20 La funcionalidad de barrera es solo una forma de proporcionar un beneficio profiláctico contra la mastitis. Se apreciará que la suplementación con agentes antimicrobianos o germicidas proporciona un beneficio adicional. El material de barrera persistente, continuo y uniforme es ventajosamente compatible con la mayoría de los agentes activos antimicrobianos conocidos. Estos pueden usarse individualmente o en combinación, por ejemplo, tales como el digluconato de clorhexidina, diacetato de clorhexidina, ácido láctico, alcohol bencílico, alcoholes inferiores (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), ácidos orgánicos, ácido salicílico y mezclas de los mismos. Otros agentes antimicrobianos pueden incluir, por ejemplo, peróxidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, peroxiácidos y mezclas de los mismos. Todavía otros agentes antimicrobianos pueden incluir bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), ácido láctico, ácido carboxílico alifático (C<sub>4</sub>-C<sub>10</sub>), ácido dodecylbencenosulfónico, alcohol bencílico, ácido salicílico y mezclas de los mismos en diversas combinaciones o grupos. Otro ejemplo de agentes antimicrobianos que se pueden usar de forma individual o en combinación incluye Ventocil® una polihexametilenobiguanida [poli(iminoimidocarboniliminidocarboniliminohexametilen)clorhidrato] de Avecia, un derivado de clorhexidina una bisbiguanida polimérica catiónica [1,6-di(4-clorofenil-diguanido) hexano, ácido láctico, alcohol bencílico, ácido salicílico y mezclas de los mismos. Alternativamente, otro de tales grupos son los compuestos de amonio cuaternario, ácido láctico, alcohol bencílico, ácido salicílico y mezclas de los mismos. Otro ejemplo de esto es el dióxido de cloro, el ácido hipohaloso, los hipohalitos alcalinos, los clorosulfamatos de alquilo y arilo y mezclas de los mismos.

Aunque algunas realizaciones pueden encontrar una ventaja particular en la selección entre los grupos anteriores, también se apreciará que el uso de los agentes activos antimicrobianos anteriores no se limita a los grupos anteriores, que una serie de agentes antimicrobianos adicionales son bien conocidos en la técnica, y se puede lograr un beneficio funcional en términos generales eligiendo uno o más de estos materiales en cualquier combinación.

- 45 Un objeto de los instrumentos descritos es proporcionar una composición formadora de película de barrera biocida y persistente que pueda usarse para la prevención de la mastitis. En una realización, la composición se puede aplicar a la piel de las tetinas animales para formar una capa biocida de película continua, uniforme y persistente que cubra la piel. En otra realización, la composición se puede usar como un baño de tetinas. En otras realizaciones, la composición también se puede usar como un desinfectante de manos, un limpiador de la piel, un exfoliante quirúrgico, un agente para el cuidado de heridas, un desinfectante, un desinfectante de superficies duras y similares. Las composiciones preferidas para aplicaciones para la piel tienen un pH de aproximadamente 2,0 a aproximadamente 9,0 y proporcionan una reducción sustancial, por ejemplo, de más del 99% o preferiblemente el 99,999% de las poblaciones de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

55 En otro aspecto, la composición mencionada anteriormente puede complementarse con agentes tamponadores, agentes de ajuste del pH, emolientes, conservantes, agentes humectantes, acondicionadores de la piel, agentes tensioactivos o humectantes, agentes de control de la viscosidad, colorantes, agentes opacificantes y combinaciones de los mismos. Estos pueden estar presentes en cualquier cantidad adecuada. En general, el colorante constituye del 0,001% a aproximadamente el 5,00% (p/p) y el agente emoliente o acondicionador de la piel del 1% al 30% (p/p) de la composición.

El control de la viscosidad es una consideración particular para cualquier entorno de uso previsto. La viscosidad de la composición puede contener un modificador de viscosidad para proporcionar una viscosidad de cualquier valor, pero preferiblemente oscila entre 1 cPs y 4000 cPs a temperatura ambiente. La viscosidad referida en esta solicitud es la viscosidad Brookfield medida en la unidad de cPs por un viscosímetro Brookfield LV a temperatura ambiente (25°C) con un husillo # 2 a 30 rpm. En diversas realizaciones, se puede añadir un espesante tal como un espesante no celulósico, a fin de lograr un intervalo de viscosidad de 50 cPs a 4000 cPs, o de 100 cPs a 2000 cPs para facilitar la formación de la película de barrera adecuada y la facilidad de aplicación para diversas necesidades lácteas sin pérdida excesiva de producto por goteo. Esto se puede hacer, por ejemplo, agregando de 0,01% a 15% (p/p) de un modificador de viscosidad o espesante tales como los copolímeros de bloques de óxido de etileno comúnmente conocidos como geles Pluronic o Poloxámeros.

Los espesantes convencionales incluyen materiales de goma de plantas tales como la goma guar; derivados de almidón y almidón, por ejemplo, almidón hidroxietílico o almidón reticulado; polisacáridos microbianos, por ejemplo goma de xantano, polisacáridos de algas marinas, por ejemplo alginato de sodio, carragenina, curdlan, pullulan o dextrano, sulfato de dextrano, suero, gelatina, quitosano, derivados de quitosano, ácidos polisulfónicos y sus sales, poli(acrilamida y glicerina. Se pueden usar espesantes celulósicos que incluyen la hemicelulosa, por ejemplo arabinosilanos y glucomananos; celulosa y derivados de la misma, por ejemplo metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietil celulosa o carboximetilcelulosa. Los espesantes celulósicos forman parte de la cantidad total de material de polisacárido y se usan preferiblemente en cantidades que no excedan las cantidades que preferiblemente no exceden el material del componente de polisacárido mayoritario que tiene el valor de equivalencia de Dextrosa (DE) que varía de 2 a 50 como se describió anteriormente.

Otra consideración es el pH, donde un rango de pH preferido para la composición es de 1,5 a 10, más preferiblemente de 2,0 a aproximadamente 9,0. En general, el pH se puede ajustar mediante la adición de ácido o base o tampón a cualquier valor que se desee en el entorno de uso previsto.

La composición se prepara combinando formulaciones líquidas espesadas acuosas que contienen los componentes orgánicos para formar un material viscoso sin grumos que se puede aplicar sobre las tetinas de los animales objetivo como una medida profiláctica contra la mastitis. Las mezclas preparadas según la composición descrita exhiben una excelente estabilidad química y reológica, así como una fuerte capacidad de adherencia para inmovilizar la película de barrera persistente, continua y uniforme en las superficies de las tetinas de los animales. Por lo tanto, en un aspecto, esta composición mejorada proporciona persistencia y protección a largo plazo de la mastitis sin causar irritaciones dérmicas.

En un aspecto, la composición puede formar una película de barrera uniforme, continua, profiláctica, no goteante y de larga duración, cuando se aplica a las tetinas de los animales, proporcionando así una protección física contra la infección microbiana entre ordeñados. Debido a que una pequeña cantidad de la película de barrera puede entrar inevitablemente en el producto lácteo, la composición preferida divulgada en este documento es particularmente ventajosa porque todos los componentes son generalmente reconocidos como seguros para el consumo humano (o "GRAS") o aprobados como aditivos alimentarios directos o indirectos. Otro aspecto de la composición es que un panel sensorial realizado por una organización independiente, por medio de un grupo de paneles de expertos concluyó que no podía detectar ningún sabor extraño de los materiales de la composición en la leche hasta una concentración del 1% en comparación con los productos comerciales tradicionales basados en yodo que probaron y que percibieron tenían ingredientes extraños detectables.

En contraste con las películas convencionales que usan PVP, la composición divulgada en este documento emplea un material de almidón hidrolizado o modificado, tal como la maltodextrina, como un agente formador de película de barrera que proporciona una adhesión mucho más fuerte al sustrato, un secado más rápido y una mejor persistencia y retención en las tetinas de los animales. Por lo tanto, no se desperdicia nada o muy poco del producto formador de película y se ahorra un costo significativo de producto y mano de obra asociados con la nueva aplicación de la película.

En otros aspectos, la composición divulgada también puede contener agentes germicidas que pueden matar bacterias, levaduras y otros microorganismos. Las formulaciones antimicrobianas únicas que son estables durante un período prolongado de tiempo permiten un control microbiano más efectivo entre los ordeñados en comparación con las composiciones descritas anteriormente.

### Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un diagrama de un proceso comercial típico que muestra la hidrólisis del almidón para producir diversos grados de almidón hidrolizado de bajo peso molecular.

### Descripción detallada de la invención

Ahora se mostrará y describirá una composición y un método mejorados que protegen eficazmente a los mamíferos de la mastitis. La composición puede formar una película continua, persistente, uniforme y de larga duración sobre las tetinas animales. Esta película de barrera protege la piel de la exposición física a microbios en el medio ambiente. La composición también contiene agentes antimicrobianos que pueden matar las bacterias y otros

microorganismos que han roto la barrera física y entran en los canales de la tetina.

Los materiales de formación de barrera descritos en este documento son principalmente polisacáridos modificados, pero estos también pueden usarse en combinación con otros materiales de formación de barrera, tales como PVP. El material formador de barrera preferido es material de polisacárido hidrolizado o modificado de aproximadamente

5 0,1% a aproximadamente 20% en peso de la composición. El material de polisacárido tiene una cantidad mayoritaria de componente de polisacárido seleccionado del grupo que consiste en almidón, almidón hidrolizado, almidón modificado, derivados de almidón y combinaciones de los mismos. La mayor parte del componente de polisacárido modificado o hidrolizado tiene un valor de Equivalencia de Dextrosa (DE) global que varía de 2 a 50, y preferiblemente de 3 a 27.

10 En un aspecto, los agentes formadores de película pueden formar una capa delgada, continua, persistente y uniforme de película de barrera sobre la piel de las tetinas del animal, y pueden aplicarse sumergiendo, espumando o rociando sobre las tetinas. Los agentes formadores de película de barrera útiles para la presente divulgación incluyen derivados de polisacáridos modificados o hidrolizados de peso molecular relativamente bajo. Preferiblemente, los derivados de polisacáridos modificados o hidrolizados son polímeros compuestos de menos de

15 aproximadamente 1000 unidades de monosacáridos.

#### Materiales de polisacárido

El polisacárido modificado o hidrolizado en la presente divulgación se refiere a polímeros compuestos por muchas unidades de monosacáridos unidas entre sí por enlaces de glucósido. Los polisacáridos se representan generalmente por la fórmula  $C_n(H_2O)_{n-1}$ , en donde n es típicamente un número mayor de 200. Los polisacáridos

20 modificados o hidrolizados son los productos que resultan de la hidrólisis por ácidos o enzimas para producir fracciones de peso molecular más bajo. Los derivados de polisacárido son productos que resultan de la modificación química o hidrólisis de los polisacáridos. Por lo tanto, el término derivado de polisacárido o polisacárido hidrolizado o modificado abarca moléculas en un amplio rango de peso molecular. Por ejemplo, la hidrólisis del almidón en un grado diferente da como resultado carbohidratos de diferentes longitudes de cadena de unidades D-(+)-glucosa,

25 siendo la glucosa el producto de la hidrólisis completa. Por lo tanto, los derivados de polisacárido pueden incluir moléculas que tienen como esqueletos un monosacárido, un disacárido, un oligosacárido o un polisacárido. Como se usa en este documento, el término "material de polisacárido de bajo peso molecular" se refiere a un polisacárido o polisacárido hidrolizado o modificado que tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 2 unidades de D-(+)-glucosa a aproximadamente 500 unidades de D-(+)-glucosa.

30 Como se conoce en la técnica, los diversos tipos de polisacáridos se diferencian en diferentes clases, variedades y calidades. Los polisacáridos son compuestos que se componen de cientos o incluso miles de unidades de monosacáridos por molécula. Los polisacáridos son polímeros naturales. De lejos, los polisacáridos más importantes son la celulosa y el almidón. Ambos se producen en plantas a partir de dióxido de carbono y agua por el proceso de la fotosíntesis y ambos se componen de unidades de D-(+)-glucosa. La celulosa es el principal material estructural

35 de las plantas, que confiere a las plantas rigidez y forma. El almidón constituye el suministro de alimentos de reserva de las plantas y se produce principalmente en las semillas. El almidón es más soluble en agua que la celulosa y se hidroliza fácilmente. La celulosa se utiliza por sus propiedades estructurales: como madera para casas, muebles; como algodón o rayón para la ropa; como papel para la comunicación y el embalaje. El almidón se usa como alimento: patatas, maíz, arroz, trigo, etc.

40 La celulosa es un polisacárido y generalmente está representada por  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , con las unidades de D-(+)-glucosa unidas como en la celobiosa dimérica. La celobiosa,  $(C_{12}H_{22}O_{11})$ , peso molecular 342,30 es una unidad repetitiva de la celulosa y liquenina y está unida por dos unidades de D-(+)-glucosa unidas en C-4 por un enlace  $\beta$ . Los derivados de materiales celulósicos tales como la hidroxipropilcelulosa, la hidroxietilcelulosa, la hidroximetilcelulosa y la hidroxipropilmetilcelulosa se utilizan ampliamente como espesantes y agentes de barrera formadores de película, ya

45 sea solos o en combinación con otros co-espesantes/agentes de barrera. La carboximetilcelulosa (CMC) es una goma de celulosa bien conocida, pero tiene una idoneidad limitada para su uso ya que es inestable a un pH inferior a 5 y precipita a valores de pH cercanos a 3. La hidroxipropilcelulosa también precipita a una temperatura elevada de 40-45°C haciéndola inadecuada para su uso a esta temperatura. Al igual que el almidón, la celulosa está formada por cadenas de unidades de D-(+)-glucosa, cada unidad está unida por un enlace glucósido a C-4 de la siguiente, pero se diferencia del almidón en la configuración del enlace glucósido en la celulosa.

En general, el almidón se presenta en forma de gránulos blancos, generalmente compuestos por aproximadamente el 20% de una fracción de polímero lineal soluble en agua llamada amilosa y el 80% de una fracción de polímero ramificado insoluble en agua llamada amilopectina. Los gránulos son mezclas organizadas de los dos tipos de polímeros tan orientados y asociados en una red cristalina que son insolubles en agua fría y son comparativamente

55 resistentes a los agentes hidrolíticos naturales tales como las enzimas. Estas dos fracciones parecen corresponder a diferentes carbohidratos de mayor peso molecular y la fórmula generalmente está representada por  $(C_6H_{10}O_5)_n$  donde n puede ser mayor que mil. La mayoría de las variedades de almidón contienen estos dos tipos de polímeros que difieren entre sí en el peso molecular y en la estructura química.

El polímero lineal amilosa consiste en de 200-1000 unidades de glucopiranosas unidas entre sí a través de enlaces  $\alpha$ -

1,4-glucosídicos, mientras que el polímero de ramas o ramificado, amilopectina, se compone de 1500 o más unidades de glucopiranosas. Además de los enlaces  $\alpha$ -1,4-glucosídicos normales o predominantes, un  $\alpha$ -1,6-glucosídico anómalo está presente en la estructura ramificada en el origen o punto de ramificación en una proporción de aproximadamente 1:25. Tras el tratamiento con ácido o bajo la influencia de las enzimas, los componentes del almidón se hidrolizan progresivamente a dextrina, que es una mezcla de polisacáridos de bajo peso molecular, (+)-maltosa y finalmente a D-(+)-glucosa. Una mezcla de todo esto se encuentra en el jarabe de maíz. Tanto la amilosa como la amilopectina están compuestas por unidades de D-(+)-glucosa, pero difieren en tamaño y forma molecular. La amilopectina tiene una estructura muy ramificada y la amilasa tiene poca o ninguna ramificación.

La maltosa, un dímero de D-(+)-glucosa que se une por un enlace  $\alpha$  es una unidad que se repite en el almidón. La maltosa es un disacárido de dos unidades de D-(+)-glucosa unidas en C-4 a través de un enlace  $\alpha$  y es un producto hidrolizado de la amilosa. Se cree que la amilosa está formada por cadenas largas, cada una de las cuales contiene 1000 o más unidades de D-(+)-glucosa unidas entre sí por enlaces  $\alpha$  como en (+)-maltosa. La amilosa es la fracción de almidón que da el color azul intenso con el yodo. La amilopectina puede hidrolizarse al disacárido único (+)-maltosa.

Un agente formador de película preferido según los presentes instrumentos es un almidón parcialmente hidrolizado o modificado, tal como la dextrina y/o la maltodextrina. La dextrina es un material polisacárido que se produce por calentamiento en seco de almidones no modificados, así como hidrólisis enzimática o catalizada por ácido del almidón húmedo. La dextrina se usa como excipiente para extractos secos y píldoras, para preparar emulsiones, para espesar pastas de tinte, papel de tamaño y telas. Las maltodextrinas son polímeros de sacáridos nutritivos no dulces que consisten en unidades de D-(+)-glucosa unidas principalmente por enlaces  $\alpha$ -(C1-C4) y se preparan mediante la hidrólisis parcial del almidón de maíz mediante ácidos o enzimas en cadenas más pequeñas de dichos enlaces tales como de 3-20 cadenas en la maltodextrina. La dextrina se subcategoriza en diferentes grados, incluyendo una serie de aditivos y materiales nutricionales que se utilizan comúnmente para la fabricación de comprimidos farmacéuticos. Estas dextrinas suelen ser mezclas de polímeros de D-(+)-glucosa que a menudo se producen por hidrólisis controlada del almidón de maíz. La mayoría de las veces se clasifican según el valor de equivalencia de dextrosa (DE), que es una unidad de medida bien conocida en la industria del almidón. La equivalencia de dextrosa (DE) es la inversa del grado de polimerización (DP) y la medida cuantitativa más comúnmente aplicada de la hidrólisis del polímero de almidón. Por ejemplo, la hidrólisis total que al almidón puede convertir en dextrosa (D-(+)-glucosa) es del 100%. Por lo tanto, la equivalencia de dextrosa (DE) de D-(+)-glucosa es de 100 y la equivalencia de dextrosa (DE) es una medida del poder reductor en comparación con un estándar de dextrosa de 100. Cuanto mayor sea la equivalencia de dextrosa (DE), mayor es la extensión de la hidrólisis del almidón, lo que resulta en un tamaño de polímero promedio más pequeño.

La hidrólisis ácida del almidón ha tenido un uso generalizado en el pasado, pero ahora está ampliamente reemplazada por procesos enzimáticos. La Fig. 1 es un diagrama de flujo que describe un uso de enzimas en la técnica anterior en un proceso comercial típico para la hidrólisis del almidón que es útil para producir materiales de polisacáridos hidrolizados o modificados que se pueden usar según la descripción que se muestra a continuación.

De los dos componentes del almidón, la amilopectina presenta el gran desafío para los sistemas de enzimas hidrolíticas. Esto se debe a los residuos implicados en los puntos de ramificación glucosídica  $\alpha$ -1,6 que constituyen aproximadamente del 4-6% de la D-(+)-glucosa presente. La mayoría de las enzimas hidrolíticas son específicas para enlaces  $\alpha$ -1,4-glucosídicos, sin embargo, los enlaces  $\alpha$ -1,6-glucosídicos también deben escindirse para la hidrólisis completa de la amilopectina a D-(+)-glucosa. Algunos de los ejercicios recientes más impresionantes en el desarrollo de nuevas enzimas se han relacionado con los enzimas desramificadores.

Como se representa en la Fig. 1, los procesos de hidrólisis del almidón se pueden condensar en dos clases amplias: (1) procesos en los cuales el hidrolizado de almidón debe ser utilizado por microbios o seres humanos y (2) procesos en los que es necesario eliminar el almidón. En los procesos anteriores, tales como la producción de jarabe de D-(+)-glucosa, el almidón suele ser el componente principal de las mezclas de reacción, mientras que en los procesos posteriores, tales como el procesamiento del jugo de caña de azúcar, las pequeñas cantidades de almidón que contaminan los materiales no de almidón se eliminan. En estos procesos se utilizan enzimas de varios tipos. Aunque se pueden utilizar almidones de diversas plantas, el maíz es la fuente más abundante del mundo y proporciona la mayor parte del sustrato utilizado en la preparación de hidrolizados de almidón.

Hay tres etapas en la conversión de almidón:

1. gelatinización, que implica la disolución de los gránulos de almidón de tamaño nanogramo para formar una suspensión viscosa;

2. licuefacción, que implica la hidrólisis parcial del almidón, con pérdida concomitante de viscosidad; y

3. sacarificación, que implica la producción de D-(+)-glucosa y maltosa por hidrólisis adicional.

La gelatinización se logra al calentar el almidón con agua, y ocurre necesariamente y naturalmente cuando se

cocinan los alimentos con almidón. El almidón gelatinizado se licua fácilmente por hidrólisis parcial con enzimas o ácidos y se sacarifica por hidrólisis ácida o enzimática adicional.

La industria del almidón y de jarabe de D-(+)-glucosa utiliza la expresión equivalencia de dextrosa (DE), similar en definición a las unidades de grado de hidrólisis (DH) de la proteólisis, para describir sus productos, donde:

5 (VI):

Equivalencia de dextrosa (DE) = 100 x (Nº de enlaces glucosídicos escindidos/Nº de enlaces glucosídicos presentes inicialmente)  
aproximado por

(VII)

Equivalencia de dextrosa (DE) = 100 x (Azúcar reductor, expresado como D-(+)-glucosa/Carbohidratos totales)

10 Por lo tanto, la equivalencia de dextrosa (DE) representa el porcentaje de hidrólisis de los enlaces glucosídicos presentes. La D-(+)-glucosa pura tiene una equivalencia de dextrosa (DE) de 100, la maltosa pura tiene una equivalencia de dextrosa (DE) de aproximadamente 50 y el almidón tiene una equivalencia de dextrosa (DE) de efectivamente cero. Durante la hidrólisis del almidón, la equivalencia de dextrosa (DE) indica la medida en que se ha escindido el almidón. La hidrólisis ácida del almidón se ha utilizado durante mucho tiempo para producir 'jarabes de glucosa' e incluso D-(+)-glucosa cristalina (monohidrato de dextrosa). Se producen cantidades muy considerables de jarabes de 42 DE utilizando ácido y se utilizan en muchas aplicaciones en confitería. La hidrólisis adicional con ácido no es satisfactoria debido a los productos de degradación, de color y sabor no deseados. La hidrólisis ácida parece ser un proceso totalmente aleatorio que no está influenciado por la presencia de enlaces α-1,6-glucosídicos. Por estas razones, a menudo se prefiere la hidrólisis enzimática. La Tabla 1 proporciona una serie de enzimas que están en uso comercial para este propósito.

**Tabla 1: Enzimas comunes utilizadas en la hidrólisis del almidón**

Enzima	Numero de EC	Fuente	Acción
α-amilasa	3.2.1.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Sólo los enlaces α-1,4-oligosacáridos son escindidos para dar α-dextrinas y predominantemente maltosa (G2) y oligosacáridos G3, G6 y G7
		<i>B. licheniformis</i>	Sólo los enlaces α-1,4-oligosacáridos son escindidos para dar α-dextrinas y predominantemente maltosa, y oligosacáridos G3, G4 y G5
		<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>A. niger</i>	Sólo los enlaces α-1,4-oligosacáridos son escindidos para dar α-dextrinas y predominantemente maltosa y oligosacáridos G3
Sacarificación por α-amilasa	3.2.1.1	<i>B. subtilis (amylosacchariticus)</i>	Sólo los enlaces α-1,4-oligosacáridos son escindidos para dar α-dextrinas con maltosa, G3, G4 y hasta 50% (p/p) de glucosa
β-Amilasa	3.2.1.2	Cebada malteada	Sólo se escinden los enlaces α-1,4, desde los extremos no reductores, para dar dextrinas límite y β-maltosa
Glucoamilasa	3.2.1.3	<i>A. niger</i>	Los enlaces α-1,4 y α-1,6 son escindidos, desde los extremos no reductores, para dar β-glucosa.
Pululanasa	3.2.1.41	<i>B. acidopullulyticus</i>	Sólo se escinden los enlaces α-1,6 para dar maltodextrinas de cadena lineal

La nomenclatura de las enzimas utilizadas comercialmente para la hidrólisis del almidón no es particularmente exacta ya que los números de EC a veces agrupan enzimas con actividades sutilmente diferentes. Por ejemplo, la α-amilasa se puede clasificar como una amilasa licuante o sacarificante, pero incluso esta clasificación es inadecuada para abarcar todas las enzimas que se utilizan en la hidrólisis comercial del almidón. Una razón para la confusión en la nomenclatura es el uso de la forma anomérica del grupo reductor liberado en el producto en lugar de la del enlace que se está hidrolizando; los productos de las α-amilasas bacterianas y fúngicas están en la configuración α y los productos de las β-amilasas están en la configuración β, aunque todas estas enzimas escindan entre los residuos de D-(+)-glucosa con enlaces α-1,4.

Las α-amilasas (1,4-α-D-glucano glucanohidrolasas) son endohidrolasas que escinden los enlaces 1,4-α-D-(+)-glucosídicos y pueden ir alrededor de, pero no pueden hidrolizar los puntos de ramificación glucosídica 1,6-α-D-(+).

Las enzimas comerciales utilizadas para la hidrólisis industrial del almidón son producidas por el *Bacillus amyloliquefaciens* (suministrado por varios fabricantes) y por *B. licheniformis* (suministrado por Novo Industri A/S como Termamyl). Difieren principalmente en su tolerancia a altas temperaturas, Termamyl conserva más actividad hasta 110°C, en presencia de almidón, que la  $\alpha$ -amilasa de *B. amyloliquefaciens*. La máxima equivalencia de dextrosa (DE) que se obtiene con las  $\alpha$ -amilasas bacterianas es de aproximadamente 40, pero el tratamiento prolongado conduce a la formación de maltulosa (4- $\alpha$ -D-(+)-glucopiranosil-D-fructosa), que es resistente a la hidrólisis por glucoamilasa y  $\alpha$ -amilasas. Los valores de equivalencia de dextrosa (DE) de 8-12 se utilizan en la mayoría de los procesos comerciales donde se produce una sacarificación adicional. El principal requisito para la licuefacción hasta este punto es reducir la viscosidad del almidón gelatinizado para facilitar el procesamiento posterior.

Varios fabricantes utilizan diferentes enfoques para la licuefacción del almidón utilizando  $\alpha$ -amilasas, pero los principios son los mismos. El almidón granular se suspende a 30-40% (p/p) en agua fría, a un pH de 6,0-6,5, que contiene de 20-80 ppm de  $\text{Ca}^{2+}$  (que estabiliza y activa la enzima) y se agrega la enzima (a través de una bomba dosificadora). La  $\alpha$ -amilasa generalmente se suministra con actividad grande, por lo que la dosis de enzima es de 0,5 a 0,6 kg de tonelada-1 (aproximadamente 1500 U kg<sup>-1</sup> de materia seca) de almidón. Cuando se usa Termamyl, la lechada de almidón más enzima se bombea continuamente a través de una cocina a chorro, que se calienta a 105°C con vapor vivo. La gelatinización ocurre muy rápidamente y la actividad enzimática, combinada con las fuerzas de cizalla significativas, comienza la hidrólisis. El tiempo de residencia en la cocina a chorro es muy breve. El almidón parcialmente gelatinizado se pasa a una serie de tubos de mantenimiento mantenidos a 100-105°C y se mantiene durante 5 minutos para completar el proceso de gelatinización. La hidrólisis a la equivalencia de dextrosa requerida (DE) se completa en tanques de retención a 90-100°C durante de 1 a 2 horas. Estos tanques contienen deflectores para desalentar la mezcla de nuevo. Se pueden utilizar procesos similares con la  $\alpha$ -amilasa de *B. amyloliquefaciens* pero no se debe sobrepasar la temperatura máxima de 95°C. Esto tiene el inconveniente de que debe introducirse una etapa final de "cocción" cuando se ha alcanzado la equivalencia de dextrosa (DE) requerida para gelatinizar los granos de almidón recalcitrantes presentes en algunos tipos de almidón que de otra manera causarían turbidez en las soluciones del producto final.

El almidón licuado suele ser sacarificado pero las cantidades comparativamente pequeñas se secan por atomización para su venta como "maltodextrinas" a la industria alimentaria, principalmente para uso como agentes de carga y en alimentos para bebés. En este caso, la actividad enzimática residual se puede destruir al disminuir el pH hacia el final del período de calentamiento.

La  $\alpha$ -amilasa fúngica también se usa en la industria de la panadería. A menudo es necesario agregarlo a las harinas para hacer pan para promover la producción adecuada de gas y la modificación del almidón durante la fermentación. Esto se ha vuelto necesario desde la introducción de las cosechadoras. Reducen el tiempo entre el corte y la trilla del trigo, que anteriormente era suficiente para permitir una aparición limitada de brotes, aumentando así las cantidades de enzimas endógenas. Las enzimas fúngicas se usan en lugar de las de las bacterianas, ya que su acción es más fácil de controlar debido a su relativa labilidad por el calor o desnaturalización rápida durante la cocción.

Los materiales de almidón hidrolizado como se describen anteriormente están fácilmente disponibles comercialmente. Se prefiere particularmente utilizar maltodextrinas que se usan comúnmente como vehículos y aglutinantes para comprimidos y granulaciones, formadores de película para encapsulación y recubrimientos. Muchas compañías productoras de cereales tienen disponibles y comercializan diversos grados de maltodextrina con diferentes propiedades químicas y físicas. Grain Processing Corporation de Muscatine, Iowa, comercializa y vende varios grados de maltodextrina con los nombres comerciales de MALTRIN®, algunos de los cuales se muestran en la Tabla 2. Las Maltodextrinas MALTRIN® están definidas por la FDA como productos que tienen una equivalencia de dextrosa (DE) menor de 20. Son generalmente reconocidos como ingredientes de alimentos seguros (GRAS). Por ejemplo, la maltodextrina MALTRIN® M040 tiene un DE de 5, tiene al menos 96% de pentasacáridos [unidades de 5 D(+)-glucosa], hidratos de carbono blandos, blancos, en polvo. Una solución de MALTRIN® M040 se caracteriza por un sabor suave y tiene excelentes características de formación de película y exhibe una viscosidad newtoniana. En niveles de 20% a 40%, MALTRIN® M040 contribuye más a la viscosidad de la solución que los productos de mayor equivalencia de dextrosa (DE) a una concentración comparable. La equivalencia de dextrosa (DE) del almidón hidrolizado que se usará en la presente invención es de al menos 2, preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 27. Se prefieren los revestimientos de película acuosos debido a los peligros y problemas medioambientales relacionados con el revestimiento de película con disolventes.

Las maltodextrinas MALTRIN® son polímeros de glucosa solubles en agua que actúan como formadores de película en un recubrimiento de película acuosa. Cualquiera de las maltodextrinas se puede utilizar para el recubrimiento de películas, sin embargo, MALTRIN® M040, M440, M100, M180, M510, QD® M440 (rápidamente dispersable), QD® M500 (rápidamente dispersable), QD® M550 (rápidamente dispersable), QD® M580 (rápidamente dispersable), QD® M600 (rápidamente dispersable) son las preferidas. Todas son excelentes formadoras de película, pero M040 proporciona una viscosidad más alta y una película más pesada. MALTRIN® M040 puede disolverse en niveles de hasta el 40% en agua. La maltodextrina MALTRIN® M100 es un polvo de carbohidrato blanco sin sabor de 10 DE, es fácilmente dispersable y fácilmente soluble, y tiene al menos un 88% de pentasacáridos. Los almidones modificados INSTANT PURE-COTE® NF son almidones de calidad farmacéutica que se han modificado

especialmente para producir películas transparentes y flexibles y también son adecuados para esta invención para proporcionar películas de barrera persistentes, continuas y uniformes. INSTANT PURE-COTE® B793 NF es un almidón de maíz modificado pregelatinizado, también comercializado por Grain Processing Corporation que también es adecuado para esta aplicación. INSTANT PURE-COTE® B793 es un almidón modificado soluble en agua fría que  
5 tiene una baja viscosidad en solución y cuando se usa como se describe en este documento, se seca para obtener una película flexible, transparente, continua y uniforme. Las películas y revestimientos terminados son solubles en agua, transparentes y tienen un brillo excelente. Los polisacáridos adecuados de otras fuentes incluyen, por ejemplo, los materiales Clintose® de Archer Daniels Midland Company (ADM) de Decatur, Illinois, incluidos los especificados como los materiales Clintose® Maltodextrin CR5, CR10, CR15, CR18 y CR24. La Tabla 2 resume las propiedades  
10 físicas y químicas de los materiales MALTRIN®, según lo publicado por Grain Processing Corporation.



La composición divulgada puede usarse junto con otros aditivos. Los ejemplos de aditivos adecuados incluyen un agente de tamponamiento o un agente de ajuste del pH, un emoliente, un conservante, un agente hidratante, un agente acondicionador de la piel, un agente tensioactivo o humectante, un agente de control de la viscosidad, un colorante, un agente opacificante o cualquier combinación de los mismos.

Además de los efectos profilácticos, la composición divulgada también puede usarse para la curación de heridas. La composición puede dar como resultado una curación de las heridas más rápida y cualitativamente mejorar la curación de las heridas al disminuir el número de microorganismos en las proximidades de la herida.

Los métodos para preparar la mezcla según la composición divulgada pueden implicar la disolución de una cantidad deseada de agente de control de la viscosidad, tal como la goma de xantano, y, opcionalmente, cualquier aditivo deseado en el disolvente. La solución se mezcla luego, por ejemplo, en un mezclador hasta que sea homogénea y no se vean grumos. Luego se bombean el sorbitol y/o la glicerina líquidos y se mezclan hasta que la solución se vuelve homogénea. Los derivados de polisacáridos, tales como la maltodextrina, luego se agregan dispensando lentamente al vórtice y mezclando hasta que se disuelven completamente. Agentes antimicrobianos, tales como el ácido salicílico, se agregan lentamente al vórtice y se mezclan hasta que se disuelven completamente. El pH se ajusta utilizando ácidos o bases o agentes tamponantes si es necesario. Finalmente, se agrega un agente colorante si se desea.

Las concentraciones útiles son aquellas donde el porcentaje de cada ingrediente funcional o mezcla de ingredientes incluyendo los agentes antimicrobianos en peso total de la composición es preferiblemente de aproximadamente 0,02% a 30% en peso para cada ingrediente y de 50% a 95% para el disolvente; más preferiblemente de aproximadamente 0,03% a 25% para cada ingrediente y de aproximadamente 60% a 95% para el disolvente; lo más preferible de aproximadamente 0,1% a 20% para el agente antimicrobiano, de aproximadamente 0,1% a 20% para el agente formador de película de barrera, de aproximadamente 0,1% a 10% para el agente espesante, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 25% para los emolientes o agentes hidratantes, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% para los agentes acondicionadores de la piel, y de aproximadamente 65% a 85% para el disolvente.

Tal como se usa en este documento, el término "sujeto" incluirá, por ejemplo, una especie de ganado doméstico, una especie de animal de laboratorio, un animal de zoológico, un animal de compañía o un ser humano. En una realización particular, "sujeto" se refiere más específicamente a animales lecheros; preferiblemente, el sujeto es una vaca.

El término "aditivo" significará cualquier componente que no sea un agente antimicrobiano o un vehículo farmacéutico. Un vehículo farmacéutico es generalmente un disolvente a granel usado para diluir o solubilizar los componentes de la composición.

El término "sustancialmente libre" significa que el componente está virtualmente ausente de una composición. Como ocurriría en cualquier proceso de preparación química, puede haber una pequeña cantidad de contaminantes en la composición, pero "sustancialmente libre" significará que el producto final contiene menos del 1% del ingrediente especificado.

El término "aplicar" o "aplicado" se interpretará en sentido amplio. Por lo tanto, se puede hacer que la composición esté en contacto con la piel del animal por medio de una variedad de medios. Tales medios incluyen, entre otros, la pulverización, aplicado con brocha, el esparcimiento, la espumación y la inmersión de tetinas y otras formas que se encuentran aceptables en la industria láctea.

#### Agentes antimicrobianos

La composición preferida incluye de 0,1% a 20% en peso de al menos un agente activo antimicrobiano. A lo largo de esta divulgación, los términos "antimicrobiano", "biocida" y "germicida" se usan indistintamente. Todos estos términos se usan para describir el efecto de ciertos productos químicos, que cuando se usan solos o en combinación, aceleran la desaparición o limitan el crecimiento de microorganismos viables. El término microorganismo, como se usa en esta divulgación, se refiere a los mismos organismos que se conocen comúnmente como microorganismos en el campo de la microbiología. Los ejemplos de microorganismos incluyen, entre otros, las bacterias, hongos, virus y similares.

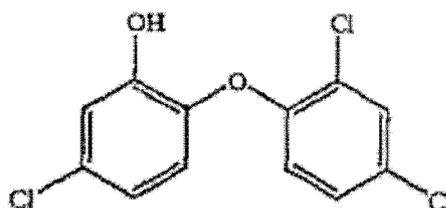
Se pueden usar diversos agentes antimicrobianos en la composición divulgada. Los ejemplos de dichos agentes antimicrobianos incluyen un ácido orgánico con alcohol bencílico y/o un alcohol alifático de bajo peso molecular que tiene un número de carbonos menor que cinco. En particular, el ácido láctico, ácido salicílico, alcohol bencílico y/o alcohol isopropílico pueden ser suficientes para hacer composiciones biocidas eficaces.

Los agentes antimicrobianos tradicionales son los componentes de una composición que destruyen los microorganismos o previenen o inhiben su replicación. En un aspecto, los agentes antimicrobianos combinados descritos anteriormente pueden usarse para reemplazar o eliminar la necesidad de agentes antimicrobianos tradicionales en una amplia variedad de aplicaciones. En otro aspecto, las composiciones antimicrobianas según las realizaciones descritas a continuación se pueden usar en combinación con estos agentes antimicrobianos

tradicionales, por ejemplo, para lograr una destrucción efectiva a concentraciones más bajas de los agentes antimicrobianos tradicionales.

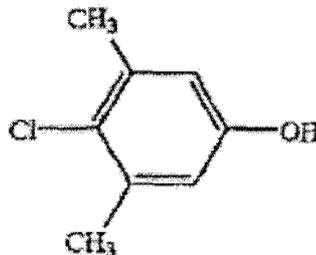
Los agentes antimicrobianos convencionales también se pueden usar además de los agentes antimicrobianos descritos anteriormente. Estos agentes antimicrobianos convencionales para uso en aplicaciones de inmersión de tetinas incluyen los yodóforos, compuestos de amonio cuaternario, compuestos liberadores de hipoclorito (por ejemplo, hipocloritos alcalinos, ácido hipocloroso), compuestos oxidantes (por ejemplo, peróxidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, peroxiácidos; hipoclorito, dióxido de cloro, ácido hipocloroso), ácidos carboxílicos protonados (por ejemplo, los ácidos heptanoico, octanoico, nonanoico, decanoico, undecanoico), ácidos aniónicos (por ejemplo, ácidos alquilarilsulfónicos, ácidos alquilsulfónicos, ácidos arilsulfónicos), dióxido de cloro de clorito alcalino por un activador de ácido y bisbiguanidas tales como la clorhexidina. Los agentes antibacterianos fenólicos se pueden elegir entre 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifeniléter, que se conoce comercialmente como Triclosan y se pueden obtener de Ciba Specialty Chemicals como IRGASAN™ e IRGASAN DP 300™ que tienen la siguiente Fórmula estructural (I):

(I)



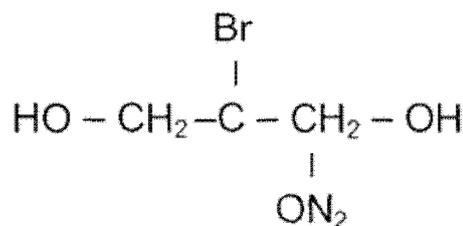
Otro agente antibacteriano es el 4-cloro-3,5-dimetilfenol (p-cloro-m-xilenol), que también se conoce como PCMX y está disponible comercialmente como NIPACIDE PX y NIPACIDE PX-P con la siguiente fórmula estructural (II):

(II):



Otros germicidas tradicionales incluyen compuestos liberadores de formaldehído tales como el glutaraldehído, 2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol (bronopol) que tiene la siguiente fórmula estructural (III).

Fórmula III



Agentes de control de la viscosidad

La viscosidad de la solución puede disminuirse mediante la adición de alcohol o agua; sin embargo, las composiciones de inmersión de tetinas generalmente se benefician del uso de un agente espesante en una cantidad que varía generalmente de 0,1% a aproximadamente 10% en peso de la composición. La cantidad particular de agente espesante es menos importante que su efecto para ajustar la viscosidad en un rango deseado. Se pueden

agregar agentes de control de viscosidad para formular las aplicaciones antimicrobianas según el entorno de uso previsto. En un ejemplo, es ventajoso que algunas formulaciones tengan una viscosidad de solución optimizada para impartir una adherencia vertical del producto sobre una tetina. Este tipo de producto viscoso, especialmente uno que

5 tiene una resistencia de gel tixotrópica, pseudoplástica o viscoelástica adecuada, minimiza el goteo del producto para evitar el desperdicio y es particularmente ventajoso en formulaciones de inmersión de tetinas. Las formulaciones de inmersión de tetinas pueden beneficiarse de una viscosidad dinámica preferida que varía de 50-4000 cPs, y de 100 cPs a 3000 cPs medida por un viscosímetro de Brookfield, modelo LV, medido en unidad cPs a temperatura ambiente (25°C) con un husillo # 2 a 30 rpm.

10 Los agentes espesantes o de control de la viscosidad adecuados incluyen materiales de goma vegetal, por ejemplo la goma guar; derivados de almidón y almidón, por ejemplo, almidón hidroxietílico o almidón reticulado; polisacáridos microbianos, por ejemplo la goma de xantano, polisacáridos marinos, por ejemplo el alginato de sodio, carragenina, curdlan, pululan o dextrano, sulfato de dextrano, suero, gelatina, quitosano, derivados de quitosano, ácidos polisulfónicos y sus sales, poliacrilamida y glicerina. Se pueden usar espesantes celulósicos que incluyen la hemicelulosa, por ejemplo los arabinosilanos y glucomananos; celulosa y derivados de la misma, por ejemplo metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa o carboximetilcelulosa. Los espesantes celulósicos forman parte de la cantidad total de material de polisacárido y se usan preferiblemente en cantidades que no exceden, preferiblemente no exceden la mayoría del componente de material de polisacárido que tiene un valor de DE que varía de 2 a 50 como se describe anteriormente.

#### 20 Agentes de ajuste del pH

El valor del pH de la composición se puede ajustar mediante la adición de materiales ácidos o básicos o tampones. En general, se prefiere un pH ácido para productos de inmersión de tetinas. Ácidos adecuados para uso como agentes de ajuste del pH pueden incluir, por ejemplo, el ácido cítrico, ácido láctico, y los ácidos fosfórico, fosforoso, sulfámico, nítrico y clorhídrico. Se pueden usar ácidos minerales para bajar drásticamente el pH. El pH se puede aumentar o hacer más alcalino mediante la adición de un agente alcalino tal como el hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio o bicarbonato de sodio o combinaciones de los mismos.

25

El rango de pH preferido de la composición es de 1,5 a 10, de 2,0 a 9,0 para usar en formulaciones de inmersión de tetinas y otras aplicaciones que requieren contacto con la piel. Más preferiblemente, el pH es de 2 a 9,0 para una formulación de inmersión de tetinas. Agentes tamponantes ácidos tradicionales tales como el ácido cítrico, ácido láctico, y ácido fosfórico también pueden usarse para mantener el tampón de pH.

30

#### Agentes humectantes y tensioactivos

35 Pueden incluirse agentes humectantes o tensioactivos para formular las composiciones divulgadas para un entorno de uso previsto. Los agentes humectantes o tensioactivos típicos se utilizan para humedecer la superficie de aplicación, reducir la tensión superficial de la superficie de aplicación para que el producto pueda penetrar fácilmente en la superficie y eliminar la suciedad no deseada. Los agentes humectantes o tensioactivos de la formulación aumentan la detergencia general de la fórmula, solubilizan o emulsionan algunos de los ingredientes orgánicos que de otra manera no se disolverían o emulsionarían, y facilitan la penetración de los ingredientes activos dentro de la superficie de las superficies de aplicación previstas, tales como las tetinas de los animales.

40

Los tensioactivos adecuadamente eficaces pueden incluir tensioactivos aniónicos, catiónicos, no iónicos, zwitteriónicos y anfóteros. Los agentes humectantes y tensioactivos utilizados en las aplicaciones de la invención pueden ser de tipo muy espumante, poco espumante y no espumante. Los tensioactivos aniónicos adecuados se pueden elegir entre los ácido alquil sulfónicos, sales de alquil sulfonato, ácidos alquilbenceno sulfónico lineales, sulfonatos de alquilbenceno lineales, alquil  $\alpha$ -sulfometil ésteres,  $\alpha$ -olefin sulfonatos, alcohol éter sulfatos, alquil sulfatos, alquilsulfo succinatos, dialquilsulfo succinatos, y sus sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, aminas y amonio. Ejemplos específicos son el ácido alquil $C_{10}$ - $C_{16}$  benceno sulfónico lineal, alquil $C_{10}$ - $C_{16}$  benceno sulfonato lineal de metal alcalino, metal alcalinotérreo, amina y sal de amonio de los mismos por ejemplo, sulfonato de dodecibenceno de sodio, sulfonato de  $\alpha$ -olefina $C_{14}$ - $C_{16}$  sódico, metil  $\alpha$ -sulfometil ester $C_{12}$ - $C_{18}$  sódico, y la sal disódica de un ácido graso metil  $\alpha$ -sulfo $C_{12}$ - $C_{18}$ . Los tensioactivos no iónicos adecuados se pueden elegir entre alquilpoliglucósidos, un alcohol alquil etoxilado, alcohol alquil propoxilado, alcohol etoxilado propoxilado, sorbitano, éster de sorbitano, y alcanolamidas. Los ejemplos específicos incluyen poliglucósido de alquilo $C_8$ - $C_{16}$  con un grado de polimerización que varía de 1 a 3, por ejemplo, poliglucósido de alquilo $C_8$ - $C_{10}$  con un grado de polimerización de 1,5 (Glucopon® 200), poliglucósido de alquilo $C_8$ - $C_{16}$  con un grado de polimerización de 1,45 (Glucopon® 425), poliglucósido de alquilo $C_{12}$ - $C_{16}$  con un grado de polimerización de 1,6 (Glucopon® 625), y copolímeros de bloque de polioxipropileno polietoxilados (poloxámeros), incluyendo a modo de ejemplo los poloxámeros Pluronic® comercializados por BASF Chemical Co. Los tensioactivos anfóteros se pueden elegir entre las betainas alquílicas y los anfoacetatos de alquilo. Las betainas adecuadas incluyen cocoamidopropil betaina, y los anfoacetatos adecuados incluyen cocoanfoacetato de sodio, lauroanfoacetato de sodio y cocoanfodiacetato de sodio.

45

50

55

60

## Agentes opacificantes y tintes

Se puede incluir un agente opacificante o tinte en la composición. El color en las tetinas de animales lácteos puede servir como un indicador de que una vaca en particular ha sido tratada. Para evitar cualquier problema con la posible contaminación de la leche, solo se deben usar tintes con certificación FD&C (grado alimenticio). Hay muchos tintes FD&C disponibles y adecuados que son FD&C Rojo # 40, FD&C Amarillo # 6, FD & C Amarillo # 5, FD&C Verde # 3 y FD&C Azul # 1 y combinaciones de los mismos. D&C Naranja # 4 también se puede usar solo o en mezcla de los mismos. El dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) se usa ampliamente como opacificante y también se puede usar en combinación con varios colorantes.

## 10 Conservantes

Algunas composiciones de inmersión de tetinas y desinfectantes para manos conocidas incluyen el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y sus sales alcalinas que actúan como un agente quelante para eliminar los iones metálicos del agua dura. Los iones metálicos, si no se eliminan de la composición, facilitan las reacciones de metaloenzima que producen energía para la replicación de las células bacterianas. También se pueden usar otros conservantes tradicionales, por ejemplo, parabeno, metilparabeno, etilparabeno, glutaraldehído.

## Disolventes

El disolvente preferido para la presente composición es agua. Sin embargo, un experto en la técnica reconocerá que pueden usarse disolventes o materiales compatibles distintos del agua para el mismo propósito. En algunas realizaciones, una composición puede contener al menos aproximadamente un 70% de agua y preferiblemente al menos aproximadamente un 75% de agua en peso basándose en el peso total de la formulación. El propilenglicol y el etilenglicol también se pueden usar como disolventes solos o en combinación con agua. Los alcoholes de cadena corta que tienen un número de carbonos inferior a seis pueden usarse como disolventes o codisolventes para mejorar la velocidad de secado cuando la composición forma una película.

**Ejemplos**

Las composiciones y los métodos se ilustrarán adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

## Formulaciones representativas (ejemplos DL-1 a DL-49)

La composición de la presente divulgación se puede preparar según los siguientes pasos. El orden de adición pretende ser solo una guía, y puede ser modificado por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica. La cantidad total de la mezcla también se puede ajustar según la aplicación prevista. La cantidad de cada componente que se agregará se establece en los ejemplos identificados como la formulación DL-1 a DL-49 en las Tablas 3-8.

A menos que se especifique lo contrario, las cantidades de ingredientes informadas en estas tablas se basan en el porcentaje en peso de la composición total. Se apreciará que la estabilidad general de estas mezclas fue bastante buena; sin embargo, especialmente como se muestra en la Tabla 7, algunas de las mezclas desarrollaron una turbidez o un precipitado (PPT). La causa principal de esto fue la precipitación de ácido salicílico, como se confirmó mediante análisis infrarrojo y HPLC. Se apreciará que las cantidades aumentadas de ácido láctico definidas como una relación de ácido láctico a ácido salicílico que exceden de 2:1 (p/p) pueden facilitar la solubilidad a largo plazo del ácido láctico, así como la inclusión de hidróxido de sodio en una relación de más de 2:3. Los números repetidos para la eficacia germicida indican múltiples pruebas de este tipo de la misma mezcla. Las variaciones en las ejecuciones repetidas de la eficacia germicida se deben principalmente a la separación de la mezcla, donde se apreciará aún más que se pueden esperar diferencias en el orden de la mitad logarítmica de los registros de este tipo de pruebas. La calidad de la película se probó utilizando diferentes cantidades de las composiciones, como se muestra en las Tablas.

## Evaluación comparativa de las películas

La calidad de la película de barrera persistente, continua y uniforme, de inmersión de las tetinas se evaluó mediante un método que se describe a continuación.

Los materiales utilizados fueron 400 ml de producto a evaluar, paneles de acero inoxidable (6 × 3 pulgadas) y vasos de precipitados de 600 ml. Los paneles se lavaron, se secaron y se pesaron en balanza analítica. Cada panel tenía una línea dibujada a 2 pulgadas de alto desde la parte inferior. Los paneles se sumergieron en el producto hasta la línea marcada y luego se colgaron para secarlos durante cuatro horas. Después de cuatro horas, se pesaron nuevamente y se calculó la cantidad de baño de tetinas seco que se retenía en el panel como la diferencia entre el peso después de cuatro horas y el peso inicial. La calidad de barrera de la película fue evaluada basado en una escala de 1 a 5. La calificación numérica fue la siguiente:

1. No seco en toda la superficie, el acero inoxidable es parcialmente visible (la peor)
2. Película pegajosa, no continua o no uniforme.

3. Película pegajosa, alguna discontinuidad.

4 película seca continua y uniforme (película ideal para la inmersión de las tetinas para la persistencia a largo plazo y una fácil eliminación)

5 película completamente seca, no pegajosa, continua y uniforme (la mejor).

Después de evaluar la apariencia general y el peso de la película, se probó la solubilidad de la película. Los paneles se dejaron reposar en 150 ml de agua fría del grifo y se ajustó el temporizador. Se registró el tiempo hasta la disolución de la película. Si la película se disolvió completamente sin mezclarse, fue la más deseada y apreciada. Las películas que necesitaron más tiempo para disolverse fueron mejores que las películas que se disolvieron en menos de 1 minuto en términos de persistencia. Todos los productos comparativos fueron evaluados simultáneamente. En general, las películas son películas superiores en comparación con los productos comerciales existentes. Las Tablas 3-4 muestran los resultados de la comparación.

La estabilidad física de las formulaciones del producto se evaluó envejeciendo las muestras a -15°C, 4°C, 25°C, 40°C, 45°C y 50°C durante un período prolongado de tiempo típicamente más de seis meses. Las muestras se verifican periódicamente visualmente para determinar la precipitación, separación, coagulación, cristalización, etc. y mediante ciclos de congelación y descongelación para muestras envejecidas a temperatura fría. El producto se considera físicamente estable si ninguno de los atributos físicos descritos anteriormente se observa o está presente. Los principios activos germicidas también se analizan para determinar su estabilidad química, su eficacia germicida, así como su pH, viscosidad, etc. El producto se considera química y germicidamente estable, si las concentraciones de los ingredientes activos permanecen dentro de ±5% de la concentración inicial en el tiempo de fabricación.

La eficacia germicida del producto también se probó mediante la prueba de eficacia germicida estándar en muestras que se envejecen durante un período prolongado a temperatura elevada (por ejemplo, a 50°C) para simular la vida del producto. La eficacia germicida de las formulaciones se evaluó mediante el método oficial estándar AOAC 960.09 para la acción desinfectante germicida y detergente de los desinfectantes, los métodos de prueba estándar europea EN 1040 para desinfectantes químicos y actividad bactericida básica antiséptica y la EN 1656 para la prueba de suspensión cuantitativa para la evaluación de actividad bacteriana de los desinfectantes químicos y antisépticos utilizados en el campo veterinario. La prueba de inhibición del crecimiento bacteriano se realizó aplicando el producto germicida a una placa de Petri y se dejó secar durante 4 horas. Las bacterias y el agar y los medios se agregaron en la parte superior del producto seco y se dejó crecer a las bacterias durante 24 horas y se midió el recuento de bacterias.

Tabla 3. Composiciones de inmersión de tetinas que forman películas de barrera: evaluación de la persistencia de la película de barrera

Mejora de la película de maltodextrina	DL-1	DL-2	DL-3	DL-4	DL-5	DL-6	DL-7	DL-8	DL-9	DL-10
Optimización de la barrera/película con maltodextrina	Concn, %									
ingredientes										
Agua	75,56	75,06	74,56	74,06	75,46	75,21	74,96	74,46	73,16	71,26
Keltrol R-Regular <sup>1</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Polivinilpirrolidona K-30	0,70	0,70	0,70	0,70	0,80	0,80	0,80	0,80	0,60	0,50
Ácido salicílico USP	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Sorbitol 70% USP	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29
Alantoina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Maltodextrina M040 <sup>2</sup>	0,50	1,00	1,50	2,00	0,50	0,75	1,00	1,50	3,00	5,00
L(+)-Ácido láctico (88%) USP-ADM	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Alcohol bencílico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Pluronic F108 <sup>3</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Diocetilsulfosuccinato de sodio (75%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Tween 80 <sup>4</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Hidróxido de sodio (50%)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
FD&C Amarillo # 5	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
FD&C Azul # 1	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Mejora de la película de maltodextrina	DL-1	DL-2	DL-3	DL-4	DL-5	DL-6	DL-7	DL-8	DL-9	DL-10
Optimización de la barrera/película con maltodextrina										
Gravedad específica, g/ml	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075
Viscosidad Brookfield LV2 30 rpm; cP <sup>s</sup>	539	535	544	560	489	567	548	586	469	651
pH, puro	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Retención del producto (adherencia)										
Cantidad del producto adherido, g: Tubo de ensayo / Panel de acero	0,100 / 0,208	0,57 / 0,174	0,067 / 0,188	0,088 / 0,211	0,88 / 0,186	0,065 / 0,188	0,107 / 0,243	0,074 / 0,220	0,109 / 0,210	0,117 / 0,294
Calidad de la película (1-5, siendo 5 lo mejor)										
Ingredientes	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%	Concn.,%
Tubo de ensayo/Panel SS	4,0 / 3,0	4,0 / 4,0	4,0 / 4,0	4,0 / 4,0	4,0 / 4,0	4,0 / 4,0	4,0 / 3,0	4,0 / 4,0	4,0 / 4,0	4,0 / 4,0

<sup>1</sup> Keltrol R es una goma xantana obtenida de Kelco Company

<sup>2</sup> Maltodextrina M040 es un almidón hidrolizado obtenido de Grain Processing Corporation

<sup>3</sup> Pluronic F-108, es un copolímero en bloque etoxilado / propoxilado de propilenglicol obtenido de BASF

<sup>4</sup> Tween 80 es un éster de polioxiétilen sorbitano de ácido oleico obtenido de Uniqema.

**Tabla 4. Composiciones de inmersión de tetinas que forman películas de barrera: evaluación de la persistencia de la película de barrera**

Mejora de la película de maltodextrina	DL-11	DL-12	DL-13	DL-14	DL-15	DL-16	DL-17	DL-18	DL-19	DL-20	DL-21	DL-22
Optimización de la barrera/película con maltodextrina												
Ingredientes	Peso, %											
Agua	78,17	77,27	76,37	75,47	74,57	73,67	71,11	70,11	72,67	72,57	73,57	71,21
Keltrol R-Regular <sup>1</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Polivinilpirrolidona K-30	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,00	0,00	0,30	0,40	0,40	0,50

<b>Mejora de la película de maltodextrina</b>	DL-11	DL-12	DL-13	DL-14	DL-15	DL-16	DL-17	DL-18	DL-19	DL-20	DL-21	DL-22
<b>Optimización de la barrera/película con maltodextrina</b>												
Ácido salicílico USP	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Sorbitol 70% USP	11,43	11,43	11,43	11,43	11,43	11,43	14,29	14,29	11,43	11,43	11,43	14,29
Alantoina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Maltodextrina M040 <sup>2</sup>	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	6,00	6,00	7,00	7,00	7,00	6,00	5,00
Ácido L(+) láctico (88%) USP-ADM	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Alcohol bencílico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Pluronic F108 <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,50
Diocilsulfosuccinato de sodio 75%	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Tween 80 <sup>4</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,40
Hidróxido de sodio (50%)	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
FD&C Amarillo # 5	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030
FD&C Azul # 1	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Gravedad específica, g/ml	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brookfield Viscosity LV2 30 rpm;cPs	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075	1,075
pH, limpio	635	655	652	665	671	643	643	643	653	655	687	651
Retención del producto (adherencia)	3,49	3,53	3,48	3,44	3,51	3,49	3,49	3,49	3,49	3,53	3,49	3,50
Cantidad de producto adherido, g.:												
Tubo de ensayo / Panel SS	0,036 / 0,118	0,050 / 0,114	0,052 / 0,134	0,054 / 0,116	0,120 / 0,192	0,119 / 0,304	0,119 / 0,304	0,119 / 304	0,114 / 0,256	0,230 / 0,277	0,106 / 0,247	

<b>Mejora de la película de maltodextrina Optimización de la barrera/película con maltodextrina</b>	DL-11	DL-12	DL-13	DL-14	DL-15	DL-16	DL-17	DL-18	DL-19	DL-20	DL-21	DL-22
Calidad de película (1-5, siendo 5 la mejor)												
Tubo de ensayo / Panel SS	3,0/4,0	4,0/4,0	4,0/3,5	4,0/3,0	4,0/3,0	4,0/4,0	4,0/4,0	4,0/4,0	4,0/3,0	4,0/4,0	4,0/3,0	4,0/4,0

<sup>1</sup> Keltrol R es una goma de xantano obtenida de Kelco Company  
<sup>2</sup> Maltodextrina M040 es un almidón hidrolizado obtenido de Grain Processing Corporation  
<sup>3</sup> Pluronic F-108, es un copolímero en bloque etoxilado / propoxilado de propilenglicol obtenido de BASF  
<sup>4</sup> Tween 80 es un éster de polioxietileno sorbitano de ácido oleico obtenido de Uniqema.

Tabla 5. Composiciones de inmersión de tetinas que forman películas de barrera: evaluación de la eficacia germicida y de la persistencia la pelliculade barrera y

Eficacia Germicida	DL-23	DL-24	DL-25	DL-26	DL-27	DL-28	DL-29	DL-30	DL-31
	Peso, %	Peso, %	Peso, %	Peso, %	Peso, %	Peso, %	Peso, %	Peso, %	Peso, %
Ingredientes									
Agua	72,11	73,61	73,61	73,61	73,61	73,61	73,66	73,71	73,81
Keltrol R <sup>1</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sorbitol 70%	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29
Matrin M040 <sup>2</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Ácido salicílico	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,85	0,80	0,70
Alantoina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Ácido láctico (88%) USP	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
Alcohol bencílico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Pluronic F108 <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Dioctilsulfosuccinato de sodio (75%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Tween 80 <sup>4</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Hidróxido de sodio (50%)	1,50	1,5 + QS*							
FD&C Amarillo 5-E102	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
FD&C Azul 1-E133	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
pH	3,50	3,60	3,70	3,80	3,90	4,00	3,50	3,50	3,50
Estabilidad físico/química**	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien
Prueba EN 1656: 25° C/30 seg.:									
Reducción log.									
E. coli	7,1	7,1	7,1	7,1	7,1	1,9	7,1	7,1	7,1
Staph. Aureus	6,9	6,9	2,6	3,1	3,6	3,7	6,9	6,9	6,9
Propiedades germicidas	DL-32	DL-33	DL-34	DL-35	DL-36				

Ingredientes	Peso, %					
Agua	72,11	77,56	77,76	77,71	77,51	
Keltrol R <sup>1</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	
Sorbitol 70%	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	
Matrin M040 <sup>2</sup>	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Poivinirolidona	0,00	0,80	0,80	0,80	0,80	
Ácido salicílico	<b>0,90</b>	<b>0,90</b>	<b>0,80</b>	<b>0,70</b>	<b>0,60</b>	
Alantoina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	
Ácido láctico (88%) USP	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00	
Alcohol bencílico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
Pluronic F108 <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	
Diocilsulfosuccinato de sodio (75%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	
Tween 80 <sup>4</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	
Hidróxido de sodio (50%)	1,50	0,25	0,15	0,30	0,60	
FD&C Amarillo 5-E102	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	
FD&C Azul 1-E133	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
pH	3,49	3,51	3,49	3,50	3,50	
Estabilidad Físico/Química*	Bien	Bien	Bien	Bien	Bien	
Prueba EN 1656: 25° C/30 seg.:						Menores concentraciones de ácido salicílico dan menores muertes
Reducción log.						
E. Coli	7,0	7,0	7,0	3,1	7,0	
	7,0	7,1	7,1	7,1	7,1	
Staph. Aureus	7,1	6,8	6,8	6,8	6,8	
	7,1	6,6	6,6	<b>4,0</b>	<b>3,1</b>	

<b>Eficacia germicida</b>	<b>DL-23</b>	<b>DL-37</b>	<b>DL-38</b>	<b>DL-39</b>	<b>DL-40</b>	<b>DL-41</b>
	<b>Peso, %</b>	<b>Peso, %</b>	<b>Peso, %</b>	<b>Peso, %</b>	<b>Peso, %</b>	<b>Peso, %</b>
Ingredientes						
Agua	72,11	77,36	76,96	76,31	75,01	73,36
Keltrol R <sup>1</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sorbitol 70%	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29
Malttrin M040 <sup>2</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Ácido salicílico	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Alantoína	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Ácido láctico (88%) USP	4,00	0,00	0,50	1,00	2,00	3,00
Alcohol bencílico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Pluronic F108 <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Diocilsulfosuccinato de sodio (75%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Tween 80 <sup>4</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Hidróxido de sodio (50%)	1,50	0,25	0,15	0,30	0,60	1,25
FD&C Amarillo 5-E102	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
FD&C Azul 1-E133	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>pH</b>	<b>3,49</b>	<b>3,51</b>	<b>3,49</b>	<b>3,52</b>	<b>3,48</b>	<b>3,58</b>
<b>Estabilidad físico/química</b>	<b>Bien</b>	<b>PPT</b>	<b>PPT</b>	<b>Bruma</b>	<b>Bien</b>	<b>Bien</b>
<b>Datos de eficacia germicida</b>						
<b>Prueba EN 1656: 25° C/30 seg.: Reducción log.</b>	<b>Ensayos duplicados</b>					
<b>E. Coli</b>						
Producto fresco	7,0 7,0	7,0	7,1	7,1 7,1	7,1 7,1	7,1 7,1
Producto envejecido 70 días a 50° C	7,0 7,1					
Producto envejecido 70 días a 50° C	7,0 7,1					

Producto envejecido 38 días a 50° C	7,0	7,1							
Muestra de lote a gran escala	7,0	5,3							
<b>Aureus</b>	<b>Ensayos duplicados</b>								<b>Ensayos duplicados</b>
Producto fresco	7,1	7,1	7,1	7,0	7,0	7,0	7,0	6,6	7,0 7,0
Producto envejecido 70 días a 50° C	7,1	6,5							
Producto envejecido 70 días a 50° C	6,5	7,0							
Producto envejecido 38 días a 50° C	6,5	7,0							
Muestra de lote a gran escala	6,5	6,6							
<b>Estabilidad química del ingrediente germicida – Formulación DL-23</b>									
<b>Análisis de ácido salicílico por un método UV-Visible</b>	Inicial	25° C	40° C	45° C	50° C				
1,5 Meses % en peso	0,924	0,964	0,952	0,942	0,941				
2,0 Meses % en peso		0,934	0,942	0,905	0,900				
*QS: La cantidad de hidróxido de sodio y agua se ajusta en la fórmula para obtener el pH requerido									
**La estabilidad física y química se evaluó a -15° C, 4° C, 25° C, 40° C, 45° C y 50° C; la inestabilidad física se informa al precipitar (PPT), Bruma y Bien representan la estabilidad física y química en todas las condiciones de temperatura									
<sup>1</sup> Keltrol R es una goma de xantano obtenida de Kelco Company									
<sup>2</sup> Maltodextrina M040 es un almidón hidrolizado obtenido de Grain Processing Corporation									
<sup>3</sup> Pluronic F-108, es un copolímero en bloque etoxilado/propoxilado de propilenglicol obtenido de BASF									
<sup>4</sup> Tween 80 es un éster de polioxietilensorbitano de ácido oleico obtenido de Uniqema.									

Tabla 8. Composiciones que forman películas de barrera: Evaluación de la eficacia germicida y de la persistencia de las películas de barrera

Eficacia germicida	DL-23	DL-42	DL-43	DL-44	DL-45	DL-46	DL-47	DL-48	DL-49
	Peso,%								
<b>Ingredientes</b>									
Agua	72,11	77,36	76,96	76,31	75,01	73,36	74,36	74,86	72,86
Keltrol R <sup>1</sup>	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sorbitol 70%	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29	14,29
Maltrin M040 <sup>2</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Ácido salicílico	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Alantoina	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Ácido láctico (88%) USP	4,00	0,00	0,50	1,00	2,00	3,00			2,00
Alcohol isopropílico							3,00	2,00	2,00
Alcohol bencílico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Pluronic F108 <sup>3</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Diocetilsulfosuccinato de sodio (75%)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Tween 80 <sup>4</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Hidróxido de sodio (50%)	1,50	0,25	0,15	0,30	0,60	1,25	0,25	0,75	0,75
FD&C Amarillo 5-E102	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
FD&C Azul 1-E133	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
pH	3,49	3,51	3,49	3,52	3,48	3,58	3,52	3,51	3,52
Estabilidad física/química*	Bien	PPT	PPT	Bruma	Bien	Bien	Bruma	PPT	PPT
<b>Datos de eficacia germicida</b>									



Ejemplo DL-50

Proceso de fabricación

Para mezclar los ingredientes anteriores, el agua se carga en un tanque de mezcla y se agita para crear un vórtice. Keltrol R (goma de xantano) se agrega al tanque extendiéndola lentamente en el vórtice para facilitar la mezcla rápida. Mantenga una velocidad del agitador que permita una mezcla uniforme y que evitar la aireación. Continúe mezclando hasta que la solución sea homogénea y no haya grumos visibles y presentes. Agregue sorbitol y/o glicerina líquidos en el tanque y mezcle durante 5 minutos o hasta que la mezcla se vuelva homogénea. Agregue maltodextrina M040 dispersándola lentamente en el vórtice y continúe mezclando hasta que esté completamente disuelta. Agregue ácido salicílico dispersándolo lentamente en el vórtice y continúe mezclando hasta que esté completamente disuelto. Agregue alantoina y pluronic F108 lentamente y mezcle hasta que estén completamente disueltos y continúe la recirculación. Bombee ácido láctico, alcohol bencílico, dioctilsulfosuccinato de sodio (Aerosol OT-75), Tween 80 y continúe mezclando hasta que la solución sea uniforme y homogénea. Extraiga la muestra de la parte inferior y superior del tanque de mezcla y verifique la homogeneidad. Agregue hidróxido de sodio y continúe mezclando durante unos 20 minutos. Se pueden tomar muestras para medir el pH y para analizar el contenido de ácido láctico, alcohol bencílico y ácido salicílico. Ajuste el pH de la solución a 3,50. Ajuste la concentración de ácido láctico, alcohol bencílico y ácido salicílico si es necesario. Finalmente, agregue los agentes colorantes, tales como FD&C azul 1 y FD&C amarillo 5 al tanque de mezcla; Mezcle 20 minutos o hasta que todos los tintes se disuelvan en la solución. Se pueden tomar muestras para examinar la existencia de grumos. Si se observan grumos, continúe mezclando hasta que no se vean grumos.

Ejemplo DL-51

Estudios de eficacia antimicrobiana

La formulación de inmersión de tetinas identificada como la fórmula en el Ejemplo DL-23 se sometió a una prueba de suspensión para evaluar la actividad biocida según la norma europea NF EN 1656 "Desinfectantes químicos y antisépticos: prueba de suspensión cuantitativa para la evaluación de la actividad bactericida de desinfectantes químicos y antisépticos utilizados en el campo veterinario - método de prueba y requisitos (fase 2, etapa 1), abril de 2000". El principio de la prueba fue determinar la actividad bactericida según las cepas de referencia *Enterococcus hirae* CIP 5855 y *Staphylococcus aureus* CIP 4 83. Las muestras de prueba se almacenaron a temperatura ambiente en la oscuridad.

Se preparó una solución de neutralización por dilución según la Tabla 9.

**Tabla 9: Solución de dilución-neutralización**

Lecitina:	3 g
Polisorbato 80:	30 g
Tiosulfato de sodio	5 g
Clorhidrato de L-histidina:	1 g
Saponina	30 g
Agua destilada	q.s.p. 500 ml
Tampón de fosfatos 0,25 moles/litro:	10 ml
Agua destilada:q.s.p.:	1000 ml
Neutralizante añadido al medio de contaje:	10% (v/v)

Condiciones experimentales:

Periodo de análisis: seis días.

Productos diluyentes utilizados durante el ensayo: agua destilada.

Concentraciones de prueba del producto: 5,0, 10,0, 20,0, 40,0, 80,0% (v / v) en agua destilada estéril.

Temperatura de ensayo: 30°C. +/-1°C.

Tiempo de contacto: 30 minutos +/- 10 segundos.

Sustancia interferente: 10 g/l de leche reconstituida.

Estabilidad de la mezcla (sustancia interferente y productos): precipitado ausente durante todas las pruebas.

## ES 2 718 608 T3

La Tabla 10 muestra los resultados experimentales que confirman la eficacia biocida de la composición del Ejemplo.

Temperatura de incubación:  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Tabla 10: Eficacia biocida de la composición del ejemplo DL-23

Organismos de prueba	Pruebas de validación				Procedimiento de la prueba a la concentración de (v/v) %:					
	Suspensión A2 <b>Nv</b>	Condiciones experimentales (30 min. 30° C) <b>A</b>	Control de neutralización <b>B</b>	Inactivación por neutralización dilución <b>C</b>	Suspensión de la prueba bacteriana <b>N</b>	5,0	10,0	20,0	40,	80,0
<i>Enterococcus hirae</i> CIP 58 55	Vc: 215; 252 A: 2,3 10 <sup>3</sup>	Vc: 211; 256 B: 2,3 10 <sup>2</sup>	Vc: 280; 243 A: 2,6 10 <sup>2</sup>	Vc: 173; 149 C: 1,6 10 <sup>2</sup>	10 <sup>6</sup> : 242; 215 10 <sup>7</sup> : 24; 31 N: 2,3 10 <sup>8</sup>	> 300; >300 >3,0.10 <sup>3</sup> <7,7.10 <sup>3</sup>	> 300; >300 >3,0.10 <sup>3</sup> <7,7.10 <sup>3</sup>	<15; <15 <1,5.10 <sup>2</sup> > 1,5.10 <sup>5</sup>	<15; <15 <1,5.10 <sup>2</sup> > 1,5.10 <sup>5</sup>	<15; <15 <1,5.10 <sup>2</sup> > 1,5.10 <sup>5</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4. 83	Vc: 171; 199 Nv: 1,9.10 <sup>3</sup>	Vc: 198; 201 A:2,0.10 <sup>2</sup>	Vc: 186;198 B1,9.10 <sup>2</sup>	Vc: 187; 173 C:1,8.10 <sup>2</sup>	10 <sup>6</sup> : 190 194 10 <sup>7</sup> :20: 20 N:1,9. 10 <sup>8</sup>	104; 118 1,1.10 <sup>3</sup> 1,7.10 <sup>4</sup>	38; 39 3,9.10 <sup>2</sup> 4,9.10 <sup>4</sup>	<15; <15 <1,5 10 <sup>2</sup> > 1,3 10 <sup>5</sup>	<15; <15 <1,5 10 <sup>2</sup> > 1,3 10 <sup>5</sup>	<15; <15 <1,5.10 <sup>2</sup> > 1,3 10 <sup>5</sup>

**Vc:** recuento de viables.  
**N:** Número de ufc/ml de la suspensión de prueba bacteriana (5.4.1.4.).  
**Nv:** Número de ufc/ml de la suspensión bacteriana (A.2.).  
**Na:** Número de ufc/ml en la mezcla de prueba (5.5.2.2.3. o 5.5.2.3.3).  
**R:** Reducción de la viabilidad (5.6.3.).  
**A:** Número de ufc/ml de la validación de las condiciones experimentales (A.4.1.a o A.4.2a).  
**B:** Número de ufc/ml de la validación de la toxicidad del neutralizador (A.4.1.b) o de la validación de la filtración (A.4.2b).  
**C:** Número de ufc/ml de la validación de la dilución-neutralización (A.4.1.c) o de la validación de la prueba de filtración de membrana (A.4.2c).

## ES 2 718 608 T3

### Conclusión:

Según la norma NF EN 1656 (abril de 2000), en 30 minutos +/- 10 segundos de contacto a 30° C, bajo 10 g/l de leche reconstituida, frente a las cepas de *Enterococcus hirae* CIP 58 55 y *Staphylococcus aureus* CIP 4. 83, el producto experimental de la fórmula de inmersión de la tetina del Ejemplo DL-23 diluido al 20,0% (v/v) posee actividad bactericida.

5

La misma prueba se repitió utilizando cepas de referencia de *Proteus vulgaris* CIP 58.60 y *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 según NF EN 1656 (abril de 2000) en un estudio de cinco días usando una temperatura de incubación de 37°C ± 1°C. La Tabla 11 muestra estos resultados

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

**Tabla 11: Eficacia biocida de la composición del Ejemplo DL-23**

Organismos de prueba	Pruebas de validación					Procedimiento de la prueba a la concentración (v/v) % de:				
	Suspensión A2 Nv	Condiciones experimentales 30 minutos 30° C A	Control de la neutralización B	Inactivación por dilución de neutralización C	Suspensión de la prueba bacteriana N	5,0	10,0	20,0	40,0	80,0
Pseudomonas Aeruginosa CIP 103467	Vc: 254 280 A:2,7.10 <sup>3</sup>	Vc: 218: 246 B:2,3.10 <sup>2</sup>	Vc: 282: 258 A:2,7.10 <sup>2</sup>	Vc: 208: 204 C:2,1.10 <sup>2</sup>	10 <sup>-6</sup> : 254:; 226 10 <sup>-7</sup> :23: 37 N:2,5x10 <sup>8</sup>	>300; >300 >3,0.10 <sup>3</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >1,7x10 <sup>5</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >1,7x10 <sup>5</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >1,7x10 <sup>5</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >1,7x10 <sup>5</sup>
<i>Proteus</i> <i>Vulgaris</i> CIP 5860	Vc: 264: 266 Nv: 2,7x10 <sup>3</sup>	Vc: 268: 284 A: 2,8x10 <sup>2</sup>	Vc: 294: 275 B: 2,9x10 <sup>2</sup>	Vc: 215: 224 C: 2,2x10 <sup>2</sup>	10 <sup>-6</sup> :252; 238 10 <sup>-7</sup> :26:41 N:2,5x10 <sup>8</sup>	>300; >300 >3,0.10 <sup>3</sup> <8,3x10 <sup>3</sup>	37;33 3,5x10 <sup>2</sup> 7,1x10 <sup>4</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >1,7x10 <sup>5</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >1,7x10 <sup>5</sup>	<15;<15 <1,5x10 <sup>2</sup> >x10 <sup>5</sup>

**Vc: Contaje viable**

**N: Número de ufc/ml de la suspensión de la prueba bacteriana (5.4.1.4)**

**Nv: Número de ufc/ml de la suspensión bacteriana (A.2.).**

**Na: Número de ufc / ml en la mezcla de prueba (5.5.2.2.3. o 5.5.2.3.3).**

**R: Reducción de la viabilidad (5.6.3.).**

**A: Número de ufc/ml de la validación de las condiciones experimentales (A.4.1.a o A.4.2a).**

**B: Número de ufc/ml de la validación de la toxicidad del neutralizador (A.4.1.b) o de la validación de la filtración (A.4.2b).**

**C: Número de ufc/ml de la validación de neutralización por dilución (A.4.1.c) o de la validación de la prueba de filtración de membrana (A.4.2c).**

Conclusión:

Según la norma NF EN 1656 (abril de 2000), en 30 minutos +/- 10 segundos de contacto a 30°C, bajo 10 g/l de leche reconstituida, frente las cepas de *Proteus vulgaris* CIP 5860 y *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467, el producto experimental de inmersión de tetinas del Ejemplo DL-23 diluido al 20,0% (v/v) posee actividad bactericida.

5 La misma prueba se repitió utilizando la muestra del Ejemplo DL-23 frente a las cepas de referencia de *Enterococcus hirae* CIP 5855, *Proteus vulgaris* CIP 5860, *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467, y *Staphylococcus aureus* CIP 4 83 *Proteus vulgaris* CIP 5860 y *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 en un estudio de nueve días utilizando una temperatura de incubación de 30°C ± 1°C. La Tabla 12 muestra los resultados.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Tabla 12: Eficacia biocida de la composición del Ejemplo DL-23

Organismos de prueba	Pruebas de validación					Procedimientos de prueba a la concentración % (m/v) de:					
	Suspensión A2 Nv	Condiciones experimentales (5 min. 30°C) A	Control de neutralización B	Inactivación por dilución d la neutralización C	Suspensión bacteriana de prueba N	5,0	10,0	20,0	40,0	80,0	
<i>Enterococcus hirae</i> CP58 55	Vc: 192;222	Vc: 197;202	Vc: 182;240	Vc: 214;202	10 <sup>-6</sup> ; 208; 162	>300;	>300;	>300;	31 ; 44	<15;<15	
	A: 2, 1.10 <sup>3</sup>	B: 2,0.10 <sup>2</sup>	A: 2, 1.10 <sup>2</sup>	C: 2, 1.10 <sup>2</sup>	10 <sup>-7</sup> ; 23; 15 N: 1,9.10 <sup>8</sup>	>300	>300	>300	3,8. 10 <sup>2</sup>	<1,5.10 <sup>2</sup>	
<i>Proteus vulgaris</i> CIP 58.60	Vc: 298;292	Vc: 291;286	Vc: 234;246	Vc: 264;292	10 <sup>-6</sup> ; 201; 220 10 <sup>-7</sup> ; 29; 21	>300;	76; 93	<15;<15	<15;<15	<15;<15	
	Nv: 3,0.10 <sup>3</sup>	A: 2,9.10 <sup>2</sup>	B: 2,4.10 <sup>2</sup>	C: 2,8.10 <sup>2</sup>	N: 2, 1.10 <sup>8</sup>	>300	8,5.10 <sup>2</sup>	<1,5.10 <sup>2</sup>	<1,5.10 <sup>2</sup>	<1,5.10 <sup>2</sup>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	Vc: 234;228	Vc: 264;224	Vc: 252;248	Vc: 218;230	10 <sup>-6</sup> ; 210; 228 10 <sup>-7</sup> ; 24; 22	<7,0. 10 <sup>3</sup>	2,5.10 <sup>4</sup>	<15;<15	>1,4.10 <sup>5</sup>	>1,4.10 <sup>5</sup>	
	Nv: 2,3.10 <sup>3</sup>	A: 2,4.10 <sup>2</sup>	B: 2,5.10 <sup>2</sup>	C: 2,2.10 <sup>2</sup>	Na	>300;	>1,5.10 <sup>2</sup>	<15;<15	<1,5.10 <sup>2</sup>	<15;<15	



Conclusión:

Según la norma NF EN 1656 (abril de 2000), en 5 minutos +/- 10 segundos de contacto a 30° C, bajo 10 g/l de leche reconstituida, frente a las cepas de *Enterococcus hirae* CIP 58 55, *Proteus vulgaris* CIP 58.60, *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467, y *Staphylococcus aureus* CIP 4. 83, el producto experimental de inmersión de tetinas del Ejemplo DL-23 diluido al 80,0% (m/v) posee una actividad bactericida.

Se realizó un estudio adicional utilizando el estándar europeo NF EN 1040 "Desinfectantes químicos y antisépticos. Actividad bactericida básica-Método de prueba y requisitos (fase 1) Abril de 1997" para analizar la muestra del Ejemplo DL-23 de la Tabla 5 frente a cepas de referencia de *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 y *Staphylococcus aureus* CIP 4 83. La solución para dilución y neutralización se preparó según la Tabla 13.

**Tabla 13. Solución para la dilución-neutralización**

Lecitina	3 g
Polisorbato 80	30 g
Tiosulfato sódico	5 g
Clorhidrato de L-histidina	1 g
Saponina	30 g
Agua destilada	q.s.p. 500 ml
Tampón de fosfatos 0,25 moles/l	10 ml
Agua destilada	q.s.p. 1000 ml

Condiciones experimentales:

Periodo de análisis: diez días.

Concentraciones de prueba del producto: 20,0, 40,0, 80,0% (p/v) en agua destilada estéril.

Temperatura de ensayo: 20°C. +/- 1°C.

Tiempo de contacto: 5 minutos +/- 10 segundos.

Temperatura de incubación: 37°C ± 1°C.

Las tablas 14 y 15 proporcionan los resultados de esta prueba.

**Tabla 14. Verificación de la metodología y de la validación de la dilución-neutralización para una concentración de prueba del 80,0% (p/v) del producto bajo prueba.**

Cepas	Número de células viables (ufc/ml):			
	Prueba de suspensión bacteriana (N)	Suspensión bacteriana A. 2 (Nv)	Toxicidad del neutralizador (Nx)	Prueba de neutralización-dilución. (Ny)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	2,8.10 <sup>8</sup>	2,9.10 <sup>3</sup>	2,7.10 <sup>2</sup>	2,9.10 <sup>2</sup>
<i>Staph. aureus</i> CIP 4 83	2.4x10 <sup>8</sup>	2.2x10 <sup>3</sup>	1.9x10 <sup>2</sup>	2.4x10 <sup>2</sup>
Requisitos de validación:				
1,5x10 <sup>8</sup> ≤ N ≤ 5.10 <sup>8</sup> ufc/ml.				
6x10 <sup>2</sup> ≤ Nv ≤ 3x10 <sup>3</sup> ufc/ml.				
Nx ≥ 0,05x Nv.				
Ny ≥ 0,05x. Nv.				

Cepas	Número de células viables (ufc/ml):			
	Prueba de suspensión bacteriana (N)	Suspensión bacteriana A. 2 (Nv)	Toxicidad del neutralizador (Nx)	Prueba de neutralización-dilución. (Ny)
La neutralización se valida para el neutralizador probado para una concentración de prueba de 80,0% (p/v) del producto como se recibió y para las cepas bajo prueba.				

**Tabla 15. Resultados actuales de las pruebas (dilución-neutralización)**

Cepas	Número de células viables (UFC / ml) en la mezcla de prueba (Na) según en las concentraciones (p /v) %:		
	20,0	40,0	80,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	$7,4 \cdot 10^2$	$<1,5 \cdot 10^2$	$<1,5 \cdot 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4 83	$<1,5 \cdot 10^2$	$<1,5 \cdot 10^2$	$<1,5 \cdot 10^2$
Reducción del número de células viables en las concentraciones probadas:			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	$3,8 \cdot 10^4$	$> 1,9 \cdot 10^5$	$> 1,9 \cdot 10^5$
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4 83	$> 1,6 \cdot 10^5$	$> 1,6 \cdot 10^5$	$> 1,6 \cdot 10^5$

**Conclusión:**

En las condiciones operativas especificadas (5 minutos de contacto a 20°C) y para la muestra sometida a prueba, la composición experimental de inmersión de tetinas del Ejemplo DL-23, tiene una actividad bactericida básica según la norma europea NF EN 1040 (abril 1997).

5 **Ejemplo DL-52**

Comparación funcional con composiciones comercialmente disponibles

10

Las películas de barrera continuas y uniformes formadas sobre las tetinas del ganado utilizando las composiciones divulgadas en este documento y las utilizadas por otros fabricantes fueron examinadas por un experto para evaluar su calidad general como barrera, durabilidad, tendencia a gotear durante la aplicación y su actividad germicida. Los efectos germicidas se pueden evaluar, por ejemplo, como se describió anteriormente utilizando un servicio de pruebas comerciales del Laboratoire Midac en Francia y en Chemiphar en Bélgica. La Tabla 16 resume los resultados de dichos estudios comparativos, que demuestran la superioridad de la formulación del Ejemplo DL-23. La evaluación de los atributos físicos y químicos se encuentra dentro del nivel ordinario de habilidad y puede realizarse de acuerdo con los métodos establecidos.

**Tabla 16. Comparación entre las composiciones formadoras de película de barrera presentes y algunas composiciones de barrera de inmersión de tetinas de productos comerciales que presenta el ejemplo DL-23 frente a los productos comerciales**

Atributos del producto	Ejemplo DL-23 Valor añadido	Filmadine	Phytoshield	Ioshield	Uddergold Platinum
Fabricante	DeLaval	Hypred-Europe	Ecolab-Europe	Ecolab-Europe	Ecolab-Europe
Registro del producto en UE	Medicinal	No medicinal	No medicinal	No medicinal	Medicinal
Propiedades germicidas	Ingredientes naturales		Ingredientes naturales		
Ingredientes activos	Ácido láctico Ácido salicílico Alcohol bencílico	Ácido láctico	Extractos de plantas	Yodo	ClO <sub>2</sub> Generado in-situ
Eficacia germicida por prueba de AOAC	7-8 Reducción log.	3-4 Reducción log.	3-4 Reducción log.	5 Reducción log.	5 Reducción log.
Resumen de barrera/película	Tensioactivo/Maltodextrina Excelente/loción	Buena/loción	PVA bueno/muy espeso	PVA bueno/muy espeso	Corriente/malo/muy delgada
Propiedades de los agentes de barrera	Recubrimiento uniforme suave/no se desprende	Película no uniforme/arenosa	Película no uniforme/arenosa	Película no uniforme/arenosa	Película no uniforme/arenosa
Calidad/tipo					
Facilidad de eliminación	Película fácil de eliminar	Difícil cuando seca	Capacidad de pelar difícil cuando seca	Capacidad de pelar difícil cuando seca	Fácil
Adherencia vertical/retención (adherencia)	No gotea/sin desperdicio	No gotea/sin desperdicio	No gotea/sin desperdicio	No gotea/sin desperdicio	Goteo —80% de desperdicio
Película residual (persistente)	Visible hasta 12 hrs/película uniforme	Película arenosa/color apagado	Película arenosa/color apagado	Película arenosa/color apagado	Película arenosa/color apagado
Durabilidad en agua	Se disuelve lentamente, permanece más tiempo		Insoluble, se despega rápido	Insoluble, se despega rápido	

Atributos del producto	Ejemplo DL-23 Valor añadido	Filmadine	Phytoshield	Ioshield	Uddergold Platinum
Calidad de la película (escala de 1-5, 5=el mejor	4,0	4,0	5,0	5,0	4,0
Producto adherido sobre un panel, g	0,319	0,173	0,352	0,118	0,032
Emoliente/agente acondicionador de la piel	10% Sorbitol Alantoína/polisorbato	Glicerina (?)	Glicerina al 6%	Glicerina al 3%/Sorbitol al 4%	Glicerina al 5%
Atributos físicos del producto					
Facilidad de uso del producto	Excelente/RTU	Excelente/RTU	Corriente/muy viscoso /RTU	Corriente/muy viscoso/RTU	Corriente /dos partes/No RTU
Visibilidad del producto en las tetinas	Excelente	Excelente	Excelente	Buena	Buena
Estabilidad física del producto	Excelente	Buena	Gel Irreversiblemente/ T frías	Gel Irreversiblemente/ T frías	Buena
Viscosity, cPs (Brookfield LV2, 30 rpm a 25°C.)	650-750	Alguna separación a 50° C	Alguna separación a 50° C	Perdió color del yodo a amarillo	Alguna separación a 50° C
Apariencia del producto	Translúcido/homogéneo	Opaco homogéneo	Opaco no homogéneo.	Opaco homogéneo	Opaco homogéneo
Color	Azul verdoso oscuro	Rojo-naranja	Verde medio ligero	Marrón oscuro-yodo	Amarillo

Los expertos en la materia apreciarán que la discusión anterior enseña a modo de ejemplo, y no por limitación. Se pueden imponer cambios insustanciales en las realizaciones específicas descritas.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición para usar en el tratamiento de las tetinas de un animal y prevenir la mastitis, capaz de formar una película de barrera persistente de larga duración, que comprende:

5 a) de 0,1% a 20% en peso de material polisacárido modificado o hidrolizado que tiene una cantidad mayoritaria de componente de polisacárido que se determina sobre la base del material total de polisacárido, seleccionado del grupo que consiste en almidón, almidón modificado, almidón hidrolizado, y combinaciones de los mismos;

b) de 0,02 a 30% en peso de al menos un agente antimicrobiano activo; y

c) al menos un disolvente que constituye entre de 50% a 95% en peso de la composición,

10 dicha composición tiene una viscosidad en el intervalo de 100 cPs a 4000 cPs medida por un viscosímetro Brookfield LV a temperatura ambiente (25° C) con un usillo del #2 a 30 rpm.

2. La composición de la reivindicación 1, que además comprende de 0,1 a 20% en peso de al menos un emoliente o agente acondicionador de la piel.

15 3. La composición de la reivindicación 1, en donde la mayoría del componente de polisacárido tiene un equivalente de dextrosa total en el intervalo de 3 a 27.

4. La composición de la reivindicación 1, en donde la mayoría del componente de polisacárido está presente en una cantidad que comprende al menos el 1% del peso de la composición.

20 5. La composición de la reivindicación 1, en donde la mayoría del componente de polisacárido se selecciona del grupo que consiste en dextrina, maltodextrina, y combinaciones de las mismas, especialmente en donde la mayoría del polisacárido comprende maltodextrina.

25 6. La composición de la reivindicación 1, en donde el material de polisacárido consiste esencialmente del componente mayoritario polisacárido. y/o en donde el material de polisacárido además incluye una cantidad minoritaria de celulosa determinada sobre las bases del material de polisacárido total.

30 7. La composición de la reivindicación 1, en donde la composición comprende un agente de ajuste de la viscosidad que incluye goma de xantano, y/o en donde el agente antimicrobiano activo incluye una combinación de ácidos orgánicos y alcoholes orgánicos.

35 8. La composición de la reivindicación 1, en donde el agente activo antimicrobiano incluye al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en digluconato de clorohexidina y diacetato de clorohexidina, ácido láctico, alcohol bencílico, ácido salicílico, alcohol isopropílico, peróxido orgánico, peróxido de hidrógeno, ácidos de peróxido, bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), ácido salicílico, polihexametilénbiguanida, compuestos de amonio cuaternario, dióxido de cloro, ácido hipohaloso, hipohalitos alcalinos, precursores de dióxido de cloro y mezclas de los mismos.

40 9. La composición de la reivindicación 1, que además incluye un aditivo seleccionado del grupo que consiste en un agente tamponante, un agente de ajuste del pH, un emoliente, un conservante, un agente humectante, un agente acondicionador de la piel un tensioactivo un agente humectante, un agente de control de la viscosidad, un colorante, un agente opacificante y combinaciones de los mismos.

10. La composición de la reivindicación 1, que además comprende de 0,001% a 5,00% (p/p) de un agente colorante.

45 11. La composición de la reivindicación 1, que tiene un pH que varía de 2,0 a 9,0.

50 12. Una composición para usar en el tratamiento de las tetinas de un animal para proporcionar una película de barrera germicida protectora persistente de larga duración entre ordeñados en un método que comprende; ordeñar al animal; recubrir las tetinas con un producto de inmersión de tetinas después del ordeñado y permitir que la composición se seque y forme una capa de película sobre dichas tetinas, en donde la composición comprende:

a) de 0,1% a 20% en peso de un material polisacárido hidrolizado o modificado que tiene una cantidad mayoritaria de componente de polisacárido que se determina sobre la base del material de polisacárido total seleccionado del grupo que consiste en almidón, almidón modificado, almidón hidrolizado, y combinaciones de los mismos;

55 b) de 0,02 a 30% en peso de al menos un agente activo antimicrobiano;

c) Una viscosidad ajustada adecuadamente para proporcionar una viscosidad que varía de 100 cPs a 4000 cPs medida por un viscosímetro de Brookfield LV a temperatura ambiente (25 grados Celsius) con un usillo

de # 2 a 30 rpm y; y

d) Al menos un disolvente que constituye entre de 50% a 95% en peso de la composición

5 13) Una composición para uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto es un animal y donde la composición, se aplica tópicamente a la piel de las tetinas del animal especialmente mediante brocha, espumación, inmersión o pulverización.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

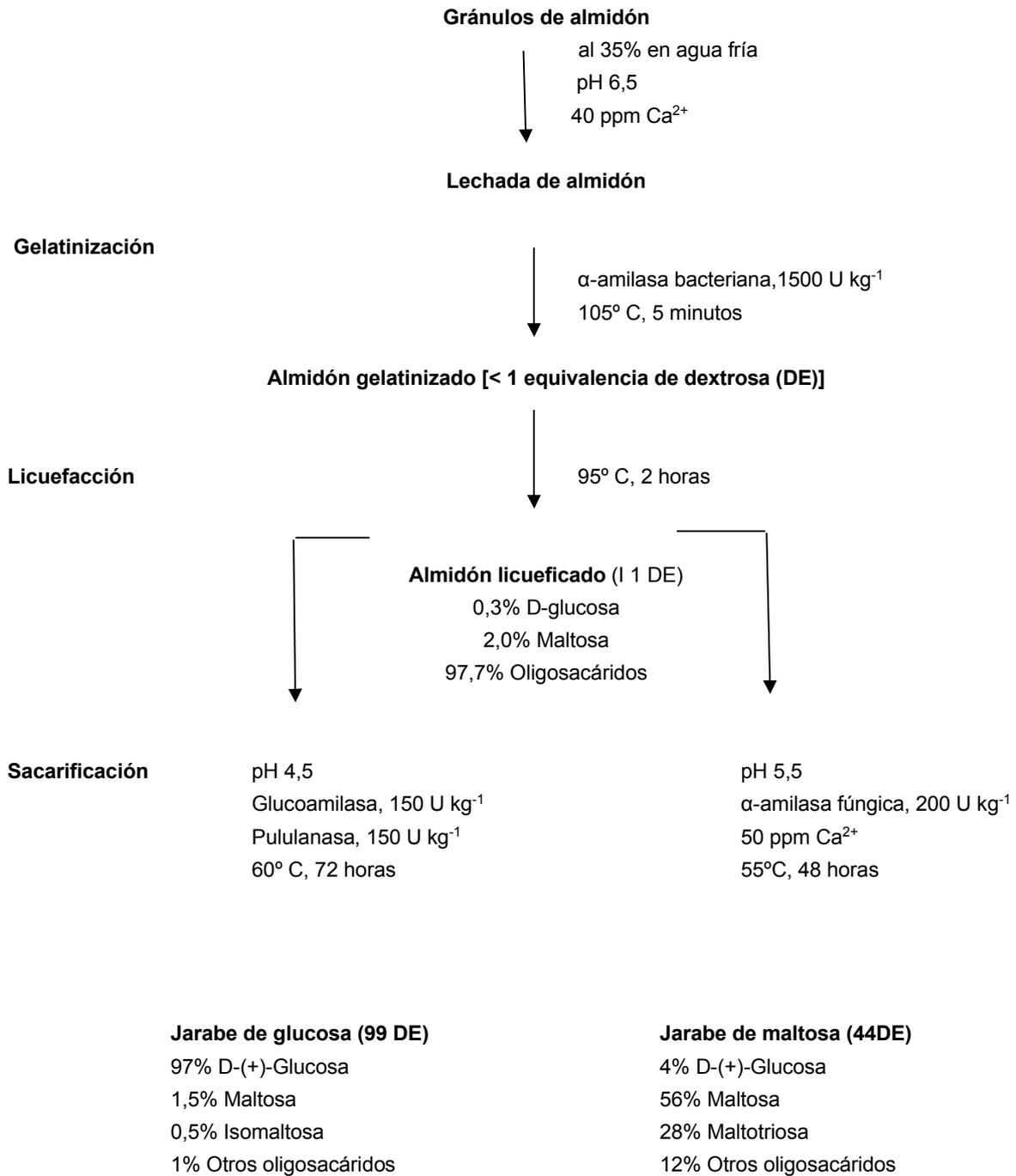


FIG. 1