

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 712**

51 Int. Cl.:

A01N 59/16 (2006.01)

A01N 25/00 (2006.01)

A01N 25/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2014 PCT/EP2014/071008**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2015 WO15049267**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2014 E 14777622 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 3051951**

54 Título: **Superficie modificada capaz de tener actividad bactericida, bacteriostática y antimicrobiana, procedimiento para su obtención y utilización de la misma**

30 Prioridad:

01.10.2013 EP 13382384

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

18.10.2019

73 Titular/es:

B. BRAUN SURGICAL, S. A. (33.3%)

Ctra. de Terrassa, 121

08191 Rubí, Barcelona, ES;

FUNDACIÓ INSTITUT DE CIÈNCIES FOTÒNIQUES (33.3%) y

INSTITUCIÓ CATALANA DE RECERCA I ESTUDIS AVANÇATS (33.3%)

72 Inventor/es:

QUIDANT, ROMAIN;

SANTOS, SUSANA;

TURON DOLS, PAU;

THOMPSON, SEBASTIAN;

WEIS, CHRISTINE y

PRIETO MARTINEZ, IRENE

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 727 712 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

Superficie modificada capaz de tener actividad bactericida, bacteriostática y antimicrobiana, procedimiento para su obtención y utilización de la misma

5

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a una superficie modificada capaz de tener actividad bactericida y bacteriostática. En particular, la presente invención se refiere a una nueva superficie modificada que tras irradiación de luz convierte la superficie de un sustrato que tiene dicha superficie modificada en una superficie bactericida y bacteriostática. La presente invención también se refiere al procedimiento para modificar la superficie de un sustrato con el fin de tener actividad bactericida y bacteriostática tras irradiación de luz, y también a un dispositivo médico o no médico que tenga dicha superficie modificada. La superficie modificada según la presente invención es adecuada para evitar el anclaje de un microorganismo en esta superficie, para inhibir la formación de un biofilm en esta superficie y/o para destruir un biofilm ya formado en esta superficie tras irradiación de luz. Estos efectos pueden conseguirse tantas veces como se desee y por tiempo indefinido sin la liberación de un agente antimicrobiano ni un agente farmacológico tal como un antibiótico o fármaco, respectivamente.

Antecedentes de la invención

[0002] Los organismos que se adhieren a, por ejemplo, la superficie de un catéter sobreviven debido a la fabricación de una "película extracelular", un sustrato rico en exopolisacáridos, a menudo refiriéndose a glicocalyx fibroso o biofilm microbiano. Los microorganismos se unen a la superficie de las proteínas del huésped, tales como la fibrina y la fibronectina, para producir el biofilm. Los organismos enclavados en la capa del biofilm son más resistentes a las terapias y agentes antimicrobianos. La utilización de soluciones de inyección de lumen que incluyen una combinación de agentes antimicrobianos así como anti-coagulantes es un proceso conocido para su eliminación.

[0003] Otra estrategia ha sido impregnar las superficies de dichos catéteres con agentes antimicrobianos con el fin de prevenir la colonización y formación del biofilm. Es deseable una propuesta mejorada para la prevención de infecciones relacionadas con catéteres intravasculares.

[0004] Se ha invertido considerable atención y se han realizado diversos estudios dirigidos a la prevención de la colonización de organismos bacterianos y fúngicos en las superficies de implantes ortopédicos mediante el uso de agentes antimicrobianos, tales como los antibióticos, unidos a la superficie de dichos dispositivos. El objetivo de dichos intentos ha sido producir la acción bactericida o bacteriostática en dichas superficies para prevenir la colonización. Se han utilizado distintos métodos para revestir las superficies de dispositivos médicos con un antibiótico.

[0005] La patente U. S. No. 4.442.133, inventada por Greco y otros, describe un procedimiento de recubrimiento de la superficie de dispositivos médicos con antibióticos que conlleva primero revestir las superficies seleccionadas con cloruro de benzalconio seguido de la unión iónica de la sustancia antibiótica.

[0006] La patente U. S. No. 4.879.135, inventada por Greco y otros, describe la modificación de superficie de implantes quirúrgicos mediante la unión de fármacos que, después de la implantación, se liberan lentamente. Más particularmente, se refiere a implantes quirúrgicos mejorados que pueden liberar de forma controlada agentes farmacológicos tales que presentan actividad antibiótica prolongada, o trombogenicidad reducida, y métodos para la fabricación de los mismos. Es bien conocida la modificación de superficies de implantes quirúrgicos, mediante adhesión en los mismos de agentes farmacológicos, con el fin de minimizar la infección y el rechazo de las prótesis implantables, hecho que ha despertado un gran interés.

[0007] Un biofilm es una acumulación de microorganismos entre los que se incluyen bacterias, hongos y virus que están embebidos en una matriz polisacárida y se adhieren a las superficies sólidas biológicas y no biológicas. Los biofilms tienen relevancia clínica ya que pueden explicar la mayoría de infecciones microbianas que se presentan en el cuerpo. Los biofilms explican muchas de las infecciones observables en la cavidad oral, oído medio, en catéteres, sondas permanentes, y relacionadas con la entubación traqueal y de ventilador.

[0008] Los biofilms son extraordinariamente resistentes al tratamiento con agentes antimicrobianos convencionales por vía tópica o intravenosa. Esto se cree que es debido a la incapacidad de los antibióticos para penetrar el recubrimiento del polisacárido del biofilm.

[0009] Las bacterias y otros microorganismos embebidos en los biofilms son también resistentes tanto a los mecanismos de defensa inmunológicos como los no específicos del cuerpo. Las bacterias contactan con una superficie sólida que activa la expresión de un grupo especial de enzimas bacterianas que provocan la formación

de polisacáridos que promueven la colonización y protección de la bacteria. La estructura de los polisacáridos de los biofilms es tal que las respuestas inmunes pueden dirigirse sólo a aquellos antígenos encontrados en la superficie exterior del biofilm y a los anticuerpos u otras proteínas salivares o del suero provocando que a menudo fracasen al intentar penetrar en el biofilm.

5

[0010] También, de forma eficaz pueden impedir que los fagocitos fagociten las bacterias que crecen en la compleja matriz de polisacáridos que está unida a la superficie sólida.

10

[0011] Muchos dispositivos médicos diferentes pueden facilitar una infección al estar en contacto con un fluido o tejido corporal. Ejemplos de tales dispositivos son catéteres de acceso (arterial y venoso), introductores, injertos vasculares, catéteres urinarios y dispositivos asociados, tales como bolsas de drenaje, conectores, los tubos de drenaje de la cavidad abdominal, y entre otros.

15

[0012] La solicitud de patente internacional WO200289750 se refiere a una terapia fotodinámica utilizando una pirrolnitrina. En particular, se refiere a los implantes quirúrgicos mejorados que tienen liberación localizada y sostenida de agentes farmacológicos tales como actividad antibiótica prolongada o reducida trombogenicidad, y a los métodos para producir la misma. Más en particular, se da a conocer un método de foto-erradicación de organismos celulares y acelulares, tales como los producidos durante un procedimiento de desinfección y esterilización in vitro o in vivo, o para una célula cancerosa o la erradicación de organismos acelulares. En un ejemplo dado, el método utiliza una combinación de un material fotosensible: pirrolnitrina, y un agente químico, en este caso un material tensioactivo en una solución. De acuerdo con la solicitud de patente internacional se describe una terapia fotodinámica que utiliza un material fotosensible, como el azul de metileno, verde de metileno o azul de toluideno en combinación con pirrolnitrina y un dispositivo de emisión de luz, como una varita de luz, placa luminosa, adaptador luminoso o un artículo que emite luz o que comunica luz.

25

[0013] Las nanopartículas se utilizan ampliamente en la actualidad, sobre todo en el campo de la nanotecnología para su aplicación en los campos de la biomedicina. Estas nanopartículas tienen que llegar a la zona patológica y pasar por agujeros muy pequeños en el interior del cuerpo. Por ejemplo, si es necesario transportar las nanopartículas de oro hasta tumores malignos a través de huecos de aproximadamente 100 nm que se forman en los puntos de ramificación que interconectan los vasos sanguíneos pre-existentes y los nuevos vasos sanguíneos producidos por los tumores malignos, las nanopartículas de oro en forma de barritas se encontrarán con dificultades para llegar a la zona de la patología debido a su morfología.

30

[0014] La patente europea No. EP2241394 describe una composición de nanopartículas de oro que pueden pasar más rápidamente a través de los agujeros pequeños in vivo que una nanopartícula en forma de barrita y que pueda ser utilizada como un aceptor de energía que provoque un calentamiento espontáneo al ser irradiada por una fuente lumínica.

35

[0015] La solicitud de patente internacional No. WO2009/024636 se refiere a un tratamiento fototérmico. Más en particular, describe un material híbrido encapsulado. Esta encapsulación en sílice es especialmente ventajosa en la medida que sirve para controlar los parámetros relacionados con las condiciones fisicoquímicas del recubrimiento final y al mismo tiempo ofrece mayores oportunidades para su funcionalización. Es especialmente adecuado para la incorporación de nanopartículas de oro en una matriz de sílice mesoporosa, que permiten una elevada gestión de los poros, con tamaño de poro controlable y elevada área superficial. El material híbrido permite el anclaje de un fármaco y/o biomarcador en la superficie de sílice que forma las nanoesferas. El material híbrido contiene al menos dos componentes: nanopartículas de oro, de tamaño entre 10 y 60 nm, dentro de una matriz de un compuesto inorgánico, preferiblemente de silicio. La luz absorbida por las nanopartículas se convierte rápidamente en calor. La incorporación de dos o más nanopartículas de oro dentro de una cápsula implica que el efecto de la interacción entre ellas ante estímulos electromagnéticos permite su uso como herramientas de diagnóstico, control de la liberación del fármaco o tratamientos fototérmicos.

45

50

[0016] La solicitud de patente US20130018299 describe nano-estructuras que incluyen nanocápsulas y métodos de uso de las nano-estructuras para tratar o mejorar una afección clínica. Más particularmente, describe un procedimiento para la obtención de nanocápsulas degradables sobre un núcleo polimérico. Las nanocápsulas pueden ser de metal, carbono, o un polímero conductor. Las nano-estructuras se pueden administrar al tejido diana de un sujeto, que puede ser humano o animal. Se puede aplicar una fuente de energía a las nano-estructuras. Las nano-estructuras absorben la energía y luego convierten la energía en calor, proporcionando de este modo la terapia al paciente a través de la liberación de un fármaco contenido dentro de dichas nano-estructuras. La luz activa la liberación del fármaco.

55

60

[0017] La solicitud de patente internacional WO2010/107720 describe un sistema para conversión ascendente y/o conversión descendente de energía y un sistema para producir una reacción fotoestimulada en un medio. La nanopartícula descrita está configurada, después de la exposición a una primera longitud de onda λ_1 de radiación, para generar una segunda longitud de onda λ_2 de radiación que tiene una energía más alta que la primera longitud

de onda λ_1 . El sistema está diseñado para producir una reacción fotoestimulada en un medio. Además, ese sistema incluye un receptor dispuesto en el medio cerca de la nanopartícula que, tras la activación por la segunda longitud de onda λ_2 , genera la reacción fotoestimulada. Por lo tanto, de nuevo, la luz de emisión (λ_2) provoca la activación de una reacción determinada. Por lo tanto, estas partículas están configuradas para convertir la luz incidente en una luz emitida diferente.

[0018] La Solicitud de Patente Internacional WO2012/059944 describe nanopartículas de plata distribuidas en un sustrato textil o polimérico. El documento WO2012/059944 se ocupa de los problemas de amarilleo de la tela en el uso de acabados con nanopartículas de plata, y proporciona un textil que tiene una mayor estabilidad a la exposición a la luz y al calor, responsable del efecto de amarilleo. Las nanopartículas de plata están configuradas para mostrar un efecto de brillo óptico, que no permite el amarilleo de las telas de algodón, en donde la absorción de SPR se utiliza como responsable del control de color. El efecto antimicrobiano de las nanopartículas de plata es bien conocido en la técnica. Aunque la plata es un agente antimicrobiano altamente potente, se requiere que las dispersiones de nanopartículas de plata a una concentración superior al 80% se apliquen sobre textiles / sustrato para una actividad antimicrobiana efectiva, lo cual es comercialmente indeseable. Además, si se usan aglutinantes, las nanopartículas de plata pierden su alto grado de actividad contra las bacterias. El SPR se divulga como responsable del color azul.

[0019] La solicitud de patente internacional WO2009/044146 describe nanopartículas embebidas en una matriz porosa de polisacárido. En particular, el documento WO2009/044146 describe un método para fabricar nanopartículas embebidas en una matriz de polisacárido poroso que utiliza el polisacárido como agente reductor y plantilla molecular para el crecimiento de las nanopartículas. La forma y las propiedades SPR de las nanoestructuras obtenidas se controlan por la porosidad del material (forma y tamaño de los poros). Mediante este método de fabricación de nanopartículas, se evita la aglomeración de las nanopartículas obtenidas, ya que su crecimiento depende del tamaño y la forma de los poros. El efecto plasmónico o activación de la luz de estas nanopartículas no se menciona. Las nanopartículas de plata se mencionan solo por su efecto antimicrobiano natural, esas nanopartículas se embeben en la matriz de polisacáridos para facilitar su manejo.

[0020] Sin embargo, existe todavía la necesidad de proporcionar una forma novedosa de prevención de las infecciones, la inhibición del biofilm y la destrucción del biofilm que sea adecuada para cualquier tipo de superficie, a largo plazo, y en particular, sin la necesidad de la liberación de un agente antimicrobiano ni un agente farmacológico tal como un antibiótico u otro tipo de fármaco, respectivamente.

Descripción resumida de la invención

[0021] La presente invención se ha realizado en base a la técnica descrita más arriba.

El objeto de la presente invención es proporcionar una superficie modificada capaz de tener actividad bacteriostática, bactericida y antimicrobiana de una manera fácil, fiable y no perjudicial para aplicaciones en humanos o animales, así como un procedimiento para modificar una superficie que sea capaz de tener una actividad bacteriostática y bactericida durante un largo plazo de tiempo cada vez que es irradiada con luz. La invención también se refiere a un dispositivo médico o no médico que tenga dicha superficie modificada de modo que cuando se irradia con luz evita el anclaje de un microorganismo a esta superficie, inhibe la formación de un biofilm sobre esta superficie y destruye un biofilm ya formado en esta superficie.

[0022] Para resolver el problema, la presente invención proporciona una superficie modificada que en combinación con irradiación de luz es capaz de convertir la superficie de un sustrato en una superficie bacteriostática y bactericida, evitando el anclaje de un microorganismo a esta superficie, la inhibición de la formación de un biofilm en esta superficie y/o la destrucción de un biofilm ya formado en esta superficie tal y como se ha reivindicado en la reivindicación 1. Sorprendentemente, dicha superficie modificada se convierte en bacteriostática y bactericida cuando es irradiada con luz en un intervalo de longitud de onda que coincide con la longitud de onda de la resonancia plasmónica de superficie localizada de dichas nanopartículas, durante un largo periodo de tiempo, cada vez que se irradia con luz.

[0023] El término "resonancia plasmónica de superficie" (SPR) se refiere a la oscilación resonante colectiva de los electrones del material excitados por la luz incidente (irradiación de luz). La condición de resonancia se establece cuando la frecuencia (rango de longitudes de onda) de la luz coincide con la frecuencia natural (banda de longitudes de onda) de los electrones casi-libres que oscilan en contra de la fuerza de recuperación de los núcleos positivos. La SPR en nanopartículas plasmónicas de tamaño nanométrico (<100 nm de diámetro) se denomina resonancia plasmónica de superficie localizada (LSPR).

[0024] El término "irradiación de luz" o "luz irradiada" se refiere al intervalo de longitudes de onda ópticas utilizadas para aumentar la temperatura de las nanopartículas térmicas. Las longitudes de onda de esta luz se superponen con la resonancia plasmónica de la nanopartícula. Para implantes quirúrgicos el rango de longitud de onda preferable está dentro de 750-1200nm.

[0025] El término "nanopartícula térmica" significa en este documento una nanopartícula plasmónica diseñada para generar un campo eléctrico dentro de la nanopartícula tras la irradiación de la luz. La nanopartícula térmica es una nanopartícula plasmónica diseñada para absorber en la nanopartícula la luz incidente tras la irradiación de luz y, principalmente, disipar en la red de iones la luz interceptada por las nanopartículas y la energía correspondiente almacenada en la nube de electrones, lo que genera un calentamiento en la nanopartícula.

[0026] Por lo tanto, la nanopartícula térmica, que es una nanopartícula plasmónica, está configurada para generar un campo eléctrico dentro de la nanopartícula cuando se irradia con luz. Por lo tanto, el campo eléctrico generado (E) dentro de la nanopartícula es responsable de la generación de calor de la nanopartícula, y la potencia de generación de calor (Q) dentro de la nanopartícula es directamente proporcional a la sección transversal de absorción (σ_{ABS}).

[0027] El material de dichas nanopartículas térmicas puede ser cualquiera con la condición que soporte resonancia de plasmón de superficie (local). Ejemplos de estos materiales son un metal, un semiconductor, un óxido, un óxido metálico o una combinación de los mismos, preferiblemente oro, plata o cobre.

[0028] Dichas nanopartículas térmicas pueden tener un tamaño de partícula en el rango de 1 nm a 100 nm.

[0029] Dichas nanopartículas térmicas tienen una forma seleccionada entre cilíndrica, triangular, piramidal, cúbica, esférica, en forma de estrella, en forma de varilla o una combinación de las mismas. Cualquier otra forma también queda contemplada en el alcance de la presente invención con la condición que esta permita generar un campo eléctrico (E) dentro de la nanopartícula cuando es irradiada con luz.

[0030] Ventajosamente, el comportamiento de la luz en una nanopartícula térmica, que está unida o decorada sobre un sustrato de acuerdo con la presente invención, es de interacción lineal, es decir, la energía de la luz emitida (después de la interacción) es igual a la energía de la luz incidente. En una interacción lineal (LI), la polarización dieléctrica (P) responde linealmente al campo eléctrico (E) de la luz.

[0031] Además, a oscilación de los electrones de las nanopartículas plasmónicas estimuladas por la irradiación de luz provoca un aumento de la temperatura de las nanopartículas, de manera que el recubrimiento térmico, que comprende dichas nanopartículas térmicas es adicionalmente calentado por difusión térmica.

[0032] El aumento de temperatura de dicho recubrimiento, que comprende dichas nanopartículas térmicas, induce la destrucción o alteración de las sustancias poliméricas extracelulares que son utilizadas por los microorganismos para adherirse a la superficie, impidiendo así su unión a la superficie. Además, este aumento de la temperatura en la superficie modificada también destruye los microorganismos que ya están adheridos a la superficie produciendo de este modo la inhibición de la creación de un biofilm.

[0033] Ventajosamente, con la superficie modificada según el primer aspecto de la presente invención, se proporciona una forma novedosa de prevención de infecciones, inhibición de biofilm y destrucción de biofilm adecuada para cualquier sustrato, que está configurado para anclar dichas nanopartículas térmicas que soportan resonancia de plasmón de superficie local, tantas veces como se desee, y por un tiempo indefinido, sin administrar un agente antimicrobiano, ni un agente farmacéutico.

[0034] Las nanopartículas térmicas pueden anclarse en el sustrato mediante tres vías diferentes. Por ejemplo, las nanopartículas térmicas pueden anclarse a través de un enlace covalente empleando una molécula funcional, vía una interacción electrostática o vía una reacción de complejos. Una combinación de estas vías diferentes para anclar nanopartículas en un sustrato también se contempla en el alcance la presente invención. La molécula funcional es una molécula bi-funcional o una molécula que tenga por lo menos de grupos reactivos en los extremos.

[0035] Por lo tanto, de acuerdo con el primer aspecto de la presente invención, se proporciona una superficie modificada (recubrimiento térmico) que actúa como una meta-superficie plasmónica que soporta plasmones de superficie a los cuales se acopla la luz.

[0036] Sorprendentemente, los autores de la presente invención han encontrado que el aumento de la temperatura del recubrimiento térmico es suficiente elevado para provocar la destrucción del biofilm cuando ya está formado en la superficie. En las tres las circunstancias anteriores, la irradiación de la luz dentro de un espectro seleccionado proporciona el aumento de temperatura de los electrones de las nanopartículas plasmónicas, de manera que el aumento de temperatura del recubrimiento térmico es suficiente para convertir la superficie modificada en una superficie bacteriostática y bactericida, que previene el anclaje de un microorganismo a esta superficie, inhibe la formación de un biofilm sobre esta superficie y/o destruye un biofilm ya formado en esta superficie.

[0037] Cuando, la actividad bacteriostática y bactericida se dirige a aplicaciones en seres humanos, la irradiación

de la luz es preferible en el espectro de infrarrojos con el fin de reducir el daño en el tejido sano que lo rodea. Sólo como referencia, se muestra en la tabla incluida a continuación la correspondencia de la longitud de onda con la energía del fotón.

5

Comparación de luz			
Nombre	Longitud de onda	Frecuencia (Hz)	Energía del fotón (eV)
Rayos X	0,01 nm – 10 nm	30 EHz – 30 PHz	124 eV – 124 keV
Ultravioleta	10 nm – 380 nm	30 PHz – 790 THz	3,3 eV – 124 eV
Visible	380 nm – 700 nm	790 THz – 430 THz	1,7 eV – 3,3 eV
Infrarrojos	700 nm – 1 mm	430 THz – 300 GHz	1,24 meV – 1,7 eV
Microondas	1 mm – 1 m	300 GHz – 300 MHz	1,24 μ eV – 1,24 meV

[0038] Los presentes inventores han encontrado que una superficie modificada de un sustrato de acuerdo con el primer aspecto proporciona una superficie capaz de tener actividad bacteriostática y bactericida cuando se combina con la luz dentro de un rango de longitudes de onda determinados, en una forma diferente de la de los agentes antimicrobianos utilizados convencionalmente, tales como antibióticos, unidos a la superficie de sustratos, o en una forma diferente a la de los agentes farmacológicos utilizados convencionalmente que tienen liberación sostenida y localizada de tales agentes mediante el uso de un material fotosensible activado por una terapia fototérmica.

10

[0039] La superficie modificada de acuerdo con el primer aspecto es sencilla, fiable y no perjudicial, aplicable para implantes quirúrgicos o dispositivos médicos en general. La superficie modificada de acuerdo con el primer aspecto también es aplicable en un campo no médico tal como en superficies de la cocina, tuberías, juguetes, u otras superficies susceptibles de ser esterilizadas o limpiadas en el sentido de destrucción de un biofilm ya formado en esta superficie o la prevención del fijado de un microorganismo a la superficie.

15

20

[0040] Por lo tanto, un aumento de la temperatura (ΔT positivo) del revestimiento térmico provocado por una irradiación de luz con una longitud de onda predeterminada permite convertir la superficie modificada en una superficie bactericida y bacteriostática. Ventajosamente, la actividad bacteriostática y bactericida se mantiene durante un largo tiempo. Además, la actividad bacteriostática y bactericida de la superficie tratada de este modo puede recordarse mediante una nueva irradiación dentro del espectro de longitudes de onda seleccionado hasta se necesite esta actividad.

25

[0041] Ventajosamente, el aumento de temperatura de la superficie modificada puede controlarse mediante el tipo de material, tamaño y forma de las nanopartículas térmicas, mediante la densidad de las nanopartículas térmicas ancladas en el sustrato y mediante la intensidad de la luz aplicada, que está gobernada por la fuente a irradiar la luz.

30

[0042] Además, el aumento de la temperatura de la superficie modificada puede ser tan local como se desee delimitando el área a ser irradiada.

35

[0043] No hay limitación en el tipo de material del sustrato. La única condición es que el material del sustrato sea capaz de anclar una nanopartícula plasmónica de superficie en el sustrato directamente, o mediante la preparación previa del sustrato o de la nanopartícula. Preferiblemente, el sustrato es de fibra, tela tejida, una aleación, un acero, un plástico, un vidrio, un material cerámico, un polímero, una resina o una combinación de los mismos.

40

[0044] El sustrato también puede ser un tejido textil, a lo largo de tejidos, tejidos de punto, trenzas y tejidos no tejidos.

45

[0045] Los polímeros útiles para un dispositivo médico son tales como polipropileno, polietileno, polietileno de baja densidad, polietileno de alta densidad, polietileno de alto peso molecular, polietileno de ultra alto peso molecular, tereftalato de polietileno, tereftalato de polipropileno, tereftalato de polietileno, polietileno tereftalato y similares. Además, se pueden usar polímeros absorbibles adecuados.

50

[0046] Tal y como se ha mencionado más arriba, los parámetros estructurales de la nanopartícula (forma, dimensión, material) determinan las características espectrales de la resonancia de plasmones (longitud de onda central, ancho de banda de la resonancia, etc ...). En ese sentido, la longitud de onda óptica tiene que ser adaptada a la resonancia plasmónica de superficie local de la nanopartícula y viceversa. Se hace notar que es posible la utilización de diferentes longitudes de onda, y por lo tanto la razón de la iluminación en una región específica del

espectro podría ser evitar el daño por fotones de la superficie a tratar.

[0047] Cualquier fuente de luz que sea capaz de generar la longitud de onda dentro del espectro óptico deseable (LSPR) de la nanopartícula térmica es susceptible de ser utilizada para irradiar la superficie modificada. Sin la intención de limitar las fuentes posibles y sólo a título de ejemplo, se describen en este documento, una lámpara fluorescente o halógena, un láser, una luz pulsada intensa, una luz emitida por diodos, una luz incandescente o quimioluminiscente o una combinación de las mismas.

[0048] Para aplicaciones médicas, es preferible que la luz irradiada esté en el espectro infrarrojo porque el tejido humano es transparente a la luz infrarroja en unos pocos centímetros de profundidad. Por lo tanto, es posible aumentar la temperatura de la superficie modificada mediante irradiación de luz, por ejemplo, desde fuera del cuerpo.

[0049] En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para la modificación de una superficie capaz de tener actividad bactericida y bacteriostática según el primer aspecto, el procedimiento estando reivindicado en la reivindicación 10.

[0050] La preparación del sustrato puede incluir uno o más de los siguientes tratamientos cuando se requiera activar o funcionalizar el sustrato:

- activación de la superficie del sustrato mediante un método de modificación de superficie;
- funcionalización de la superficie del sustrato con una molécula funcional, que tiene al menos dos grupos reactivos terminales; y
- funcionalización de la superficie de las nanopartículas térmicas con una molécula funcional, que tiene al menos dos grupos reactivos terminales.

[0051] Se entiende por la descripción en el presente documento el hecho de que hay sustratos que no requieren activación ni funcionalización.

Los métodos de modificación de superficie para activar la superficie están citados en la presente invención, siendo preferible la polimerización con plasma frío. Las formas de funcionalizar la superficie están citados en la presente invención, siendo preferible un derivado de diamina como molécula funcional.

[0052] Las formas de unir las nanopartículas térmicas a dicho sustrato también se han descrito aquí en este documento.

[0053] El material y parámetros estructurales de las nanopartículas térmicas así como el rango de longitud de onda a ser irradiada también se han descrito aquí en este documento.

[0054] En un tercer aspecto, la presente invención se refiere a un dispositivo médico o a un dispositivo no médico que comprende la superficie modificada de acuerdo con el primer aspecto de la invención, de modo que el dispositivo médico o el dispositivo no médico comprenda el recubrimiento térmico capaz de tener actividad bacteriostática y bactericida tras irradiación de luz para así evitar el anclaje de un microorganismo a esta superficie, inhibir la formación de un biofilm en esta superficie y/o para destruir un biofilm ya formado en esta superficie.

Breve descripción de las Figuras

[0055] Para mejor comprensión de lo que se ha descrito se incluyen algunas figuras en las que, esquemáticamente y sólo a título de ejemplo no limitativo, muestran un caso particular de una realización.

La Figura 1 es un diagrama de bloques esquemático de cada etapa del procedimiento para modificar una superficie (A) de acuerdo con la presente invención. En esta realización, el sustrato (A) se preparó activando la superficie mediante polimerización por plasma frío (1), a continuación, a continuación, se funcionalizó (2) la superficie con grupos diamina, y finalmente se decoró o unió con nanopartículas de oro (3) para formar un recubrimiento térmico. El sustrato teniendo la superficie modificada se implantó (4), por ejemplo en un cuerpo, y entonces, se irradió con luz con empleando un Láser / Luz Pulsada Intensa (PL)(5).

La Figura 2 es un dibujo esquemático de una malla que tiene una superficie modificada según el Ejemplo 1. En esta figura, la reacción EDC/NHS es la reacción de carboxilo a amina: Carbodiimidias (EDC), y *N*-hidroxisuccinamida (NHS), un grupo cross-linker carboxilo carboxilo a amina y un grupo cross-linker reactivo de amina, respectivamente.

La Figura 3 muestra una imagen SEM (Microscopia electrónica de barrido) de la malla modificada después de modificación con el método EDC-NHS (Ejemplo 1). La adhesión de agregados de nanopartículas es casi imperceptible.

La Figura 4 muestra la microscopía de fluorescencia de una malla modificada con nanopartículas térmicas de oro por complejación con grupos amino de acuerdo con el Ejemplo 2. El anclaje de las nanopartículas a la malla se controló mediante microscopía de fluorescencia. La intensidad de la señal es proporcional a la cantidad de nanopartículas térmicas de oro anclados en la superficie.

La Figura 5 muestra una imagen SEM (Microscopía electrónica de barrido) de la malla modificada con nanopartículas de oro después de modificación con el método de acomplejamiento (Ejemplo 2), donde la distribución de superficie regular se obtiene comparada con el método EDC-NHS (Ejemplo 1). Más de 200 nanopartículas por μm^2 de malla pueden observarse.

La Figura 6 muestra una malla que tiene una cantidad de nanopartículas ancladas mediante comparación entre dos fotos a) y b), la foto de la derecha mediante la técnica de fluorescencia.

Las Figuras 7 a 10 tienen por objeto mostrar la inhibición, la destrucción y la prevención del anclaje de microorganismos a la superficie modificada según la presente invención.

La Figura 7 muestra la formación de un biofilm en color azul (sobra que rodea los hilos de la malla) en la malla modificada después de la incubación bacteriana y sin radiación de luz.

La Figura 8 muestra la inhibición de un biofilm y la destrucción del biofilm en una malla modificada después de la irradiación con luz con una longitud de onda en el rango de 750-1200nm, donde la longitud de onda de plasmón de la nanopartícula plasmónica térmica que está unida al sustrato es una longitud de 840nm.

La Figura 9 muestra microorganismos unidos a los hilos de una superficie de malla modificada en color azul (marcas).

La Figura 10 muestra la prevención del anclaje de microorganismos a la malla modificada después de irradiar luz a una longitud de onda de 840nm, que empareja con la longitud de onda de 840nm, que es la longitud de onda de plasmón de la nanopartícula plasmónica unida a la superficie.

Descripción detallada de la invención

[0056] Con el fin de configurar un sustrato capaz de anclar una nanopartícula de plasmón de superficie a la que la luz pueda acoplarse, el sustrato puede activarse previamente utilizando cualquier método de modificación de superficie conocido en el arte. Sólo a título de ejemplo, existen métodos físico-químicos tales como un tratamiento con gases y vapores activos o la irradiación (plasma); la deposición de polímeros a partir de vapores y gases activos (deposición química en fase vapor); gas activo o tratamientos de aceleración de iones (oxidación en fase gaseosa con ozono, haz de iones); reticulación de moléculas de superficie; o métodos mecánicos tales como rugosidad; o métodos químicos tales como la absorción física, conjugación química de grupos de superficie, modificación química de la superficie; o polimerización de injerto con iniciación de radiación o iniciación química; o recubrimiento de la superficie con un componente activo o matriz de revestimiento que contiene el componente activo.

[0057] Hay sustratos que no necesitan ser activados porque ya están activados, por ejemplo, por su condición natural. Con el fin de identificar cuando el sustrato está o no activado el experto en la técnica conoce mediciones comunes, tales como la medición del ángulo de contacto en el que se mide el ángulo entre la superficie y una gota de agua. A la vista de estos datos se puede calcular la energía de superficie. Otra manera es dejar que la superficie reaccione con un cromóforo conocido y medir la cantidad anclada comparando con una curva de calibración.

[0058] El sustrato o la nanopartícula térmica de plasmón de superficie puede también contener grupos funcionalizados o pueden estar funcionalizadas mediante un proceso de activación con grupos reactivos: -COOH (ácidos carboxílicos), -CHO (aldehído), -NH₂ (amina), -CONH₂ (amida), -CN (nitrilo), -OH (alcohol), -SH (tiol), etc. En general: flúor, cloro, bromo, yodo, carbaldehído, keto, carboxilo, ciano, nitro, amido, hidroxilo, amino, sulfato, sulfito, fosfato, fosfito, hidroxilo, oxi, mercapto o tio; o grupos de formación compleja; grupos capaces de formar enlaces hidrógeno; moléculas que contienen grupos iónicos para la adsorción de iones. Ejemplos de alternativas son los cross-linkers comunes tipo imidoéster cross-linker dimetil suberimidato, el éster N-hidroxisuccinimida, formaldehído, glutaraldehído, etc o semejantes.

[0059] Por lo tanto, el sustrato o la nanopartícula térmica de plasmón de superficie pueden funcionalizarse previamente con una molécula funcional, preferiblemente una molécula bi-funcional o una molécula funcional que tenga al menos dos grupos reactivos en los extremos. La molécula funcional es un cross-linker que debe tener al menos dos grupos reactivos en los extremos, permitiendo al menos el primer grupo reactivo de un extremo ser capaz de anclar el sustrato previamente o no activado y el al menos el segundo grupo reactivo del otro extremo

ser capaz de anclar la nanopartícula de plasmón de superficie. Solo a título de ejemplo, se describen aquí los siguientes extremos reactivos para anclar la nanopartícula de plasmón de superficie al sustrato: -COOH (ácidos carboxílicos), -CHO (aldehído), -NH₂ (amina), -CONH₂ (amida), -CN (nitrilo), -OH (alcohol), -SH (tiol), etc. En general: flúor, cloro, bromo, yodo, carbaldehído, keto, carboxilo, ciano, nitro, amido, hidroxilo, amino, sulfato, sulfito, fosfato, fosfito, hidroxilo, oxi, mercapto o tio; o grupos de formación compleja; grupos capaces de formar enlaces hidrógeno; moléculas que contienen grupos iónicos para la adsorción de iones. Ejemplos de alternativas son los cross-linkers comunes tipo imidoéster cross-linker dimetil suberimidato, el éster N-hidroxisuccinimida, formaldehído, glutaraldehído, etc. Otros cross-linkers bi-funcionales comercialmente disponibles pueden ser un boc-amino, etantio, mercapto-1-butanol, etc..

[0060] Por lo tanto, la superficie de las nanopartículas plasmónicas también se puede modificar para unirse al sustrato como se describe aquí. Esta modificación se puede realizar utilizando moléculas hereto- u homo-funcionales capaces de unirse en un lado a la superficie de la nanopartícula y en el otro lado al sustrato, por ejemplo, la modificación de una superficie de oro con reactivos que contienen tiol, que tiene en el otro lado el grupo funcional deseado capaz de unirse al sustrato ya sea covalentemente o por interacción iónica. Estas moléculas hereto- u homo-funcionales incluyen todos los grupos funcionales HS-R, donde -R se refiere a cualquier cadena de alquilo o polietilenglicol y los grupos funcionales se relacionan con cualquier grupo químico capaz de activarse y acoplarse a la superficie del sustrato. Especialmente HS-R-COOH, HS-R-HN₂, HS-R-SH, HS-R-SO₃ y HS-R-N(CH₂)₃⁺ son adecuados para el propósito de la presente invención. La superficie de la nanopartícula térmica también puede ser modificada por polivinilpirrolidona y un gran número de polímeros.

[0061] Por otro lado, existen sustratos que no requieren ser activados ni tampoco requieren el uso de una molécula funcional. Estos sustratos pueden ser un polímero o un copolímero que tiene grupos activos, tales como grupos amino libres, en su superficie. Estos grupos activos pueden anclarse directamente a la nanopartícula de plasmón de superficie sin la necesidad de preparar previamente el sustrato. Preferiblemente, el método de anclaje es un método no reversible.

[0062] El anclaje de una nanopartícula de plasmón de superficie al sustrato puede llevarse a cabo mediante un enlace covalente vía una molécula funcional, que tiene al menos dos extremos reactivos, o mediante una interacción electrostática o mediante una reacción acomplejante o mediante una combinación de las mismas. Por lo tanto, el sustrato puede prepararse para que sea capaz de anclar la nanopartícula de plasmón de superficie y también la nanopartícula de plasmón de superficie puede prepararse de la misma manera para que sea capaz de anclarse en el sustrato.

[0063] En una realización, la superficie del sustrato es activada mediante polimerización por plasma frío, por ejemplo, activada por deposición de moléculas, tipo PFM (pentafluorophenyl methacrylate).

[0064] En una realización, el sustrato o nanopartícula térmica de plasmón de superficie puede funcionalizarse con una molécula funcional, siendo preferiblemente la molécula funcional un derivado de diamina.

[0065] El dispositivo médico puede ser un implante quirúrgico, una sonda, una malla, una sutura, unas pinzas rectas, agujas médicas, catéteres intravasculares, tubos endotraqueales e implantes o cualquier producto médico útil en el campo médico. En una realización, el dispositivo médico es una malla de hernia, malla prolapsada, cinta de incontinencia, vendajes para heridas, prótesis de vasos, endoprótesis vasculares, endoprótesis vasculares o similares. Más allá de los implantes, los instrumentos quirúrgicos están cubiertos en la presente invención por el término de dispositivos médicos. En una realización, la superficie es de un dispositivo médico.

[0066] Tal y como se ha descrito más arriba, las nanopartículas térmicas plasmónicas que pueden unirse al sustrato pueden tener un tamaño de partícula dentro del intervalo de 1nm a 1µm, más preferiblemente de 1nm a 100nm. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención una macro-superficie de un sustrato, por ejemplo, una malla se decora con nanopartículas térmicas que tienen un tamaño del orden de nano o micro. Así, la densidad de nanopartículas térmicas decoradas en el sustrato puede modificarse hasta un determinado valor con el objeto de controlar el aumento de la temperatura de la superficie modificada hasta un valor determinado para matar o evitar el anclaje de un tipo particular de biofilm. La densidad de nanopartículas térmicas decoradas en el sustrato es de 10 a 1000 (nanopartículas térmicas/µm²).

[0067] Para entender el mecanismo para reducir, matar o prevenir el biofilm en la superficie modificada de acuerdo con la presente invención, debe entenderse que un biofilm que se adhiere a un sustrato consiste en muchas bacterias adheridas por medio de apéndices físicos y sustancias poliméricas extracelulares. El crecimiento de biofilm se rige por una serie de procesos físicos, químicos y biológicos. La temperatura óptima para un microorganismo se asocia con un aumento en la ingesta de nutrientes que resulta en una rápida formación de biofilm. El metabolismo de los nutrientes está directamente asociado y depende de la presencia de enzimas. Por lo tanto, puede ser justo decir que la formación de un biofilm depende de la presencia y las tasas de reacción de las enzimas. La temperatura se correlaciona con la velocidad de reacción de las enzimas y, por lo tanto, influye en

el desarrollo de las células. Las temperaturas óptimas dan como resultado el crecimiento saludable de las poblaciones bacterianas.

5 **[0068]** Por el contrario, las temperaturas alejadas del óptimo reducen la eficiencia del crecimiento bacteriano. Esto se debe a una reducción en las tasas de reacción de las enzimas bacterianas. Además de las enzimas, la temperatura ambiental afecta las propiedades físicas de los compuestos dentro y alrededor de las células. Kiskó y O. Szabó-Szabó [Eliminación con biofilm de las cepas de *Pseudomonas* mediante saneamiento con agua caliente. Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria, 4 (2011) 69–79] observó la reducción del número de células de biofilms a altas temperaturas. En Planctonic, las células de *P. aeruginosa* mostraron una reducción de 6 log tras el tratamiento con agua caliente (85°C). Cuando se adhirió *Pseudomonas aeruginosa* a la superficie de acero inoxidable (células unidas a la superficie reversible), la reducción fue más leve: 4,9. Las células de biofilm mostraron la mayor resistencia (reducción de 3,2 log) frente al tratamiento de agua a 85°C. Scher et al. [Appl. Rein. Microbiol. Marzo 2005 vol. 71 no. 3, página 1163-1168] encontraron resultados similares en el biofilm de *Salmonella*; los tratamientos térmicos (a 70 ° C) dieron como resultado una reducción de menos de 5 log después de 40 min. El tratamiento a 80 ° C destruyó todas las células (reducción de 8 log) en 5 minutos o menos. También en células de tipo levadura (blastocnidia) de *C. albicans* que crecieron exponencialmente en un medio que contenía glucosa sufrieron una pérdida dramática de viabilidad celular cuando se sometieron a un estrés por calor severo (52.5 ° C durante 5 minutos) [Juan Carlos Argüelles Termotolerancia y trehalosa acumulación inducida por el choque térmico en células de levadura de *Candida albicans*. FEMS Microbiology Letters Volume 146, Issue 1, páginas 65–71, enero de 1997].

[0069] Por lo tanto, es de conocimiento general por un experto en la materia determinar la temperatura que se requiere para reducir, eliminar o prevenir un biofilm en cada tipo de microorganismo.

25 **[0070]** Tal y como se ha descrito más arriba, las nanopartículas térmicas plasmónicas a unirse en el sustrato pueden tener una forma de partícula seleccionada entre cilíndrica, triangular, piramidal, cúbica, esférica, en forma de estrella, forma de varilla o una combinación de las mismas, o cualquier otra forma que sea capaz de anclarse en el sustrato configurado para tal propósito.

30 **[0071]** Tal y como se ha descrito más arriba, el material de la nanopartícula plasmónica puede ser de oro, plata, cobre o cualquier otro metal que presente efecto de resonancia de plasmón en su superficie; el material puede ser también un semiconductor, un óxido, un óxido metálico o cualquier otro material que muestre un efecto de resonancia plasmónica en su superficie. Preferiblemente, las nanopartículas térmicas plasmónicas son nanopartículas de oro que por ellas mismas no son tóxicas. La determinación de qué materiales muestran efecto resonante de plasmón en su superficie es de conocimiento general por un experto en la materia en este campo.

35 **[0072]** Por lo tanto, según la presente invención, los parámetros de tamaño, forma o material de las nanopartículas térmicas se pueden modificar para modular el aumento de temperatura del sustrato hasta un valor predeterminado. Además, otros parámetros, como la fuente de luz irradiada sobre la superficie modificada, también pueden ser útiles para controlar aún más el aumento de temperatura del sustrato hasta un valor predeterminado.

[0073] En lo sucesivo, se describe en detalle el mejor modo de llevar a cabo la presente invención.

45 **[0074]** En el mejor modo, la superficie es la superficie de un implante quirúrgico. El implante quirúrgico puede ser una malla que tiene la superficie modificada, en donde la malla se implanta en el cuerpo de un humano. La malla está hecha de polipropileno (PP).

50 **[0075]** En esta forma de realización, una activación del polipropileno se lleva a cabo mediante polimerización por plasma frío para obtener grupos químicos reactivos. En una segunda etapa, la malla se sumergió en una solución de diamina para conseguir la presencia de este grupo reactivo en la superficie. En una tercera etapa, las nanopartículas de oro se fijaron covalentemente a la superficie de la malla por unión a los grupos amino reactivos.

55 **[0076]** Estas nanopartículas de oro absorben luz a 840 nm, que pertenece al espectro infrarrojo. Bajo una irradiación a esta longitud de onda, con láser o IPL (luz pulsada intensa), las nanopartículas de oro tienen un calentamiento espontáneo. Un aumento repetitivo de la temperatura convierte la malla en una superficie bactericida/bacteriostática. Las nanopartículas de oro no son tóxicas por ellas mismas y la irradiación de la luz no es invasiva, como consecuencia, se puede realizar varias veces en cualquier momento después de la implantación.

Ejemplos

60 **[0077]** Las nanopartículas pueden obtenerse mediante un proceso mediado en dos etapas, un proceso mediado por semillas. Las dimensiones de las nanopartículas así como la longitud de onda de absorción de la SPR pueden ajustarse variando las relaciones del nitrato de plata / ácido ascórbico / semillas.

Preparación de la semilla:

[0078] Primero se prepararon semillas de oro coloidal mezclando soluciones acuosas de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, 0,2 M, 5 mL) y hidrato de tetracloroaurato de hidrógeno (III) (0,5 mM, 5 mL), ambas se mantuvieron a 27 °C. Después, se añadió una solución acuosa recién preparada de borohidruro de sodio (NaBH₄, 0,01 M, 0,6 mL), enfriada previamente a 4 °C, bajo agitación vigorosa durante 2 minutos. En este punto, la semilla se dejó reposar durante 2 horas a 30 °C para permitir que el NaBH₄ restante evolucione. Esto produjo una suspensión de nanopartículas de oro de tamaños entre 1-2 nm, que fueron utilizadas como semilla para la preparación de las nanopartículas. Esta solución se refirió como suspensión de semillas.

Crecimiento de la nanopartícula:

[0079] Se preparó ahora la "solución de crecimiento" que consistió en CTAB (0,2 M, 20 ml), al que se añadieron cantidades variables de material de nitrato de plata (4 mM) en función de la relación de aspecto deseada de las nanopartículas y se dejó la mezcla bajo agitación suave. Se añadió hidrato de tetracloroaurato de hidrógeno (III) (1 mM, 20 ml) y se obtuvo una solución de color amarillo / marrón. Una vez que el ácido ascórbico (79 mM, 0,29 ml) se añadió a la solución de color amarillo / marrón, la mezcla viró a incolora. A continuación, se añadieron 72 µL de suspensión de siembra envejecida a la solución de crecimiento, se mezclaron brevemente y se dejó en reposo durante 8 horas a 30 °C para evitar la cristalización de CTAB. Debe tenerse en cuenta un cambio de color inicial de la mezcla después de aprox. 10min. Este procedimiento dio una suspensión de nanopartículas que presentaban un máximo LSPR en torno a 820 nm (± 20 nm) y una absorción máxima de 1,6 UA.

Preparación de -COOH nanopartículas.

[0080] 20 mL de la suspensión de nanopartículas obtenida en el Ejemplo 1 se centrifugó dos veces a 14.000 rpm, 30 minutos. Cada vez se retiraba el sobrenadante y se sustituía por una solución 4 mM de CTAB en agua.

[0081] Una mezcla de la solución de los reactivos carboxilantes se preparó como sigue: 97 mg de SH-PEG-COOH (peso molecular: 3.000) y se disolvieron 3 mg de ácido carboxílico mercapto undecilo (MUA) en 10 ml de agua y el pH se ajustó a 7.

[0082] La suspensión de nanopartículas (20 ml) fue el agregado de 2 ml de la mezcla de reactivos carboxilantes (10 mg / ml) y se colocó en un baño de ultrasonidos a 45°C. La mezcla resultante se sometió a ultrasonidos durante 30 minutos y después se colocó a 30°C durante toda la noche.

[0083] A continuación, la suspensión nanocompleja carboxilada resultante se centrifugó (14.000 rpm, 30 minutos), el sobrenadante se eliminó y, finalmente, se volvió a dispersar con agua pura para dar una absorción de alrededor de 3,5 AU en el máximo SPR.

EJEMPLO 1Modificación de una malla mediante nanopartículas térmicas de oro

[0084] Las nanopartículas térmicas de oro descritas más arriba se anclaron en una malla de un implante quirúrgico. Las nanopartículas térmicas de oro se conjugaron a la malla mediante 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil] carbodiimida (EDC) y las reacciones de N-hidroxisulfosuccinimida (NHS). Brevemente, se disolvieron 5 mg de NHS y 10 mg de EDC en 1 mililitro de tampón fosfato 50 mM pH 7, 25. Poco después, 2 mililitros de la solución de la GNR se añadieron a la solución tampón. Después de esta etapa, las mallas se sumergieron en la solución durante 4 horas. Justo después, la malla se lavó con agua limpia para eliminar cualquier las nanopartículas de oro no unida. Figuras 2 y 3.

EJEMPLO 2Modificación de una malla mediante nanopartículas térmicas de oro

[0085] En este ejemplo, las nanopartículas térmicas de oro obtenidas tal y como se ha descrito más arriba y suspendidas en CTAB se enlazaron a la malla modificada con los grupos amino sin ninguna modificación adicional. La habilidad de oro metálico para complejar con grupos amino se explotó para formar un gran número de enlaces complejos que conducen a un anclaje estable de las nanopartículas de oro en la malla. En la práctica, las nanopartículas térmicas de oro suspendidas en CTAB después de la etapa de crecimiento (100 mM CTAB) se centrifugaron y el sobrenadante se reemplazó por agua pura para ajustar la concentración de CTAB a 3 mM y la concentración de nanopartículas a una absorbancia de 8 UA a 820 nm. La malla amino modificada se agregó a esta suspensión y se incubó durante la noche a 50°C para realizar el anclaje de las nanopartículas térmicas de oro a la malla. La malla se lavó luego extensamente con agua pura. Figuras 4 y 5.

[0086] Alternativamente, el tiempo de incubación puede reducirse aumentando la temperatura o agregando diferentes cantidades de etanol a la suspensión de incubación hasta un 30%. En cualquier caso, la extensión de

la modificación puede controlarse controlando el tiempo de incubación.

Crecimiento de las bacterias y el efecto de la irradiación de la luz

[0087]

5 Bacterias iniciales *S. aureus* 8.8 x 10⁸ ufc / ml (conservadas 4 días a 4°C antes del ensayo).
 Medio líquido de cultivo: caldo de infusión del corazón del cerebro (caldo BHI).
 Medio sólido de cultivo: Tryptic Soy Agar (TSA)
 Placas de petri de 6 cm y 10 cm.

10 **[0088]** Todo el trabajo se realiza en condiciones estériles, *S. aureus* se diluye con caldo BHI a 2,96 x10⁶ ufc / ml.
 Las placas de Petri de 6 cm (8) se preparan con un medio sólido TSA de aproximadamente 3 mm de espesor. En
 2 platos colocamos una malla sin tratar (4 cm²) y en otros dos platos colocamos la malla modificada con
 nanopartículas (4 cm²). Los cuatro ensayos se inocularon con 350 µl de *S. aureus* (1.03 x10⁶ ufc) y luego se colocó
 15 otra porción de TSA sólido sobre la malla inoculada para obtener un sándwich de agar. Los 350 µl de inóculo
 parecen distribuirse correctamente sobre toda la superficie de Agar. Los sándwiches se colocan a 37°C y se
 incuban durante 6 horas. Dos de las muestras (malla decorada o no con nanopartículas térmicas) se tratan con
 IPL (luz de pulso intensa) a 1, 2, 3, 4, 5, 6 horas. Dos impactos de IPL en cada lado del emparedado (11 julios /
 cm², 40 mseg, luz filtrada a 755 nm). Esos valores están por debajo del umbral de dolor crítico cuando se aplican
 sobre la piel humana.

20 **[0089]** Las cuatro muestras de malla se recuperan, se lavan ligeramente en 20 ml de PBS estéril y se colocan en
 10 ml de PBS que contiene perlas de vidrio estériles de 2 mm. Para realizar la extracción de biofilms, las muestras
 se tratan en un baño de EE. UU. De 45 khertz y luego en el vórtice durante 2 minutos. La suspensión resultante
 se coloca luego para el cultivo en placas de Petri de agar de 10 cm (100 ul de inóculo) a diferentes diluciones en
 25 PBS 1:10, 1: 100, todo por duplicado.

[0090] Las muestras se almacenan a 37°C y el recuento de cfu se realiza a las 18 horas. Resultados

Muestra	1:10	ufc/plato	1:100	ufc/plato
No NC No IPL	TNTC	TNTC*	195	1.88x10 ⁶
	TNTC		182	
Nc+IPLSupl	10	9x10 ³	1	5x10 ³
	8		0	

Ufc cuenta de resultados para el Segundo experimento

*TNTC: Demasiado numerosos para contar

30

[0091] Esta experiencia muestra una inhibición del crecimiento de biofilm de *S. aureus* (3-log de disminución de
 crecimiento) cuando la malla está decorada con nanopartículas térmicas de oro e IPL por un efecto térmico de la
 resonancia SPR de las nanopartículas. Las Figuras 7, 8, 9 y 10 demuestran los efectos cuando la superficie
 35 modificada de acuerdo con la invención se irradia con luz.

REIVINDICACIONES

1. Superficie modificada capaz de tener actividad bacteriostática, bactericida y antimicrobiana, que comprende:

- un sustrato configurado para anclar una nanopartícula térmica que soporta resonancia de plasmón de superficie local en su superficie, y,

- nanopartículas térmicas que soportan resonancia de plasmón de superficie local unidas a dicha superficie del sustrato formando un revestimiento térmico, donde el revestimiento térmico tiene una densidad de nanopartículas térmicas por μm^2 de la superficie del sustrato que varía de 10 a 1000,

las nanopartículas térmicas siendo capaces de aumentar su temperatura por irradiación de luz en un intervalo de longitud de onda que coincide con la longitud de onda de la resonancia de plasmón de superficie local de dichas nanopartículas, por lo cual el revestimiento térmico aumenta su temperatura, permitiendo el aumento de temperatura de dicho revestimiento térmico evitar el anclaje de un microorganismo a esta superficie, inhibir la formación de un biofilm sobre esta superficie y/o destruir un biofilm ya formado en esta superficie.

2. Superficie modificada según la reivindicación 1, donde dichas nanopartículas térmicas que soportan resonancia de plasmón de superficie local están unidas a dicha superficie del sustrato mediante un procedimiento de unión no reversible.

3. Superficie modificada según la reivindicación 1, donde dicho sustrato es de fibra, una tela tejida, una aleación, un acero, un plástico, un polímero, una resina, un vidrio, un material cerámico o una combinación de los mismos.

4. Superficie modificada según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha nanopartícula térmica tiene un tamaño de partícula que varía de 1nm a 100nm.

5. Superficie modificada según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha nanopartícula térmica tiene una forma seleccionada entre cilíndrica, triangular, piramidal, cúbica, esférica, en forma de estrella, en forma de varilla o una combinación de las mismas.

6. Superficie modificada según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha nanopartícula térmica se selecciona entre oro, plata, cobre, un semiconductor, un óxido, un óxido metálico o una combinación de los mismos.

7. Superficie modificada según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha nanopartícula térmica está unida a dicha superficie del sustrato mediante un enlace covalente vía una molécula funcional, o directamente al sustrato mediante un enlace electrostático, o mediante una reacción de acomplejamiento o mediante una combinación de las mismas.

8. Superficie modificada según la reivindicación 5, donde la molécula funcional es una molécula bi-funcional o una molécula funcional que tiene al menos dos grupos reactivos terminales.

9. Superficie modificada según la reivindicación 1, donde la irradiación de luz es de una lámpara fluorescente o halógena, un láser, luz pulsada intensa, luz emitida por diodos, luz incandescente o quimioluminiscente o una combinación de estas.

10. Procedimiento para la modificación de una superficie capaz de tener actividad bacteriostática, bactericida y antimicrobiana según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el procedimiento:

- preparar un sustrato para anclar nanopartículas térmicas que soportan resonancia de plasmón de superficie local en su superficie;

- seleccionar nanopartículas térmicas que soportan resonancia de plasmón de superficie local en su superficie;

- enlazar la nanopartícula térmica seleccionada a dicha superficie del sustrato de modo que se forma un revestimiento térmico;

las nanopartículas térmicas siendo capaces de aumentar su temperatura por irradiación de luz en un intervalo de longitud de onda que coincide con la longitud de onda de resonancia de plasmón de superficie local de dichas nanopartículas, por lo cual dicho revestimiento aumenta su temperatura, permitiendo el aumento de temperatura de dicho revestimiento térmico evitar el anclaje de un microorganismo a esta superficie, inhibir la formación de un biofilm en esta superficie y destruir un biofilm ya formado en esta superficie modificada.

11. Procedimiento según la reivindicación 10, donde la preparación del sustrato incluye uno o más de los siguientes tratamientos:
- activación de la superficie del sustrato mediante un método de modificación de superficie;
 - funcionalización de la superficie del sustrato con una molécula funcional, que tiene al menos dos grupos reactivos terminales; o
 - funcionalización de la superficie de las nanopartículas térmicas con una molécula funcional, que tiene al menos dos grupos reactivos terminales.
12. Procedimiento según la reivindicación 11, donde el método de modificación de superficie para activar la superficie se selecciona entre un tratamiento con gases y vapores o irradiación; deposición de polímeros a partir de vapores y gases activos; un gas activo o tratamientos de aceleración de iones; reticulación de moléculas de superficie; o métodos mecánicos; o métodos químicos; o polimerización de injerto con iniciación de radiación o iniciación química; o recubrimiento de la superficie con un componente activo o matriz de revestimiento que contiene el componente activo.
13. Procedimiento según las reivindicaciones 11 o 12, donde el método de modificación de superficie es una polimerización por plasma frío.
14. Procedimiento según la reivindicación 11, donde la funcionalización de la superficie del sustrato o la funcionalización de la superficie de la nanopartícula térmica se lleva a cabo con una molécula funcional seleccionada entre un agente de reticulación, grupos de formación compleja, grupos capaces de formar enlaces hidrógeno, o moléculas que contienen grupos iónicos para la adsorción de iones.
15. Procedimiento según las reivindicaciones 11 o 14, donde la funcionalización de la superficie se lleva a cabo con un derivado de diamina.
16. Superficie modificada según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 9 en un dispositivo médico seleccionado entre un implante quirúrgico, una sonda, una malla, una sutura, una aguja médica, malla de hernia, malla prolapsada, cinta de incontinencia, apósito para heridas, un stent, un stent injerto, un producto médico o similar.
17. Superficie modificada según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1-9 en un dispositivo no médico seleccionado entre una superficie de cocina, tuberías, juguetes o cualquier producto no médico.
18. Dispositivo médico o no médico que comprende un revestimiento térmico capaz de tener actividad bacteriostática, bactericida y antimicrobiana según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1-9.

FIG 1

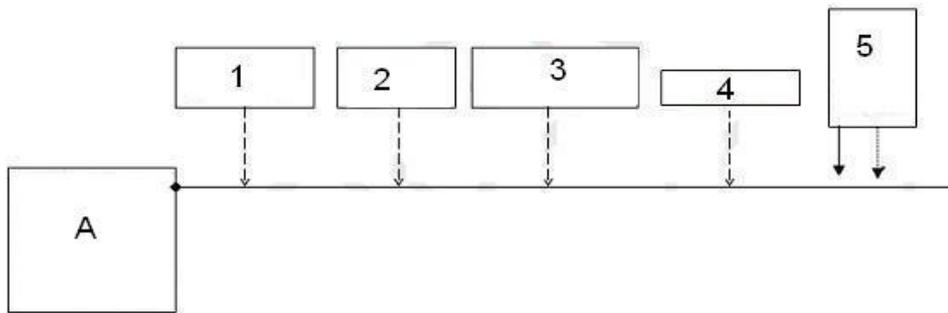


FIG 2



FIG 3

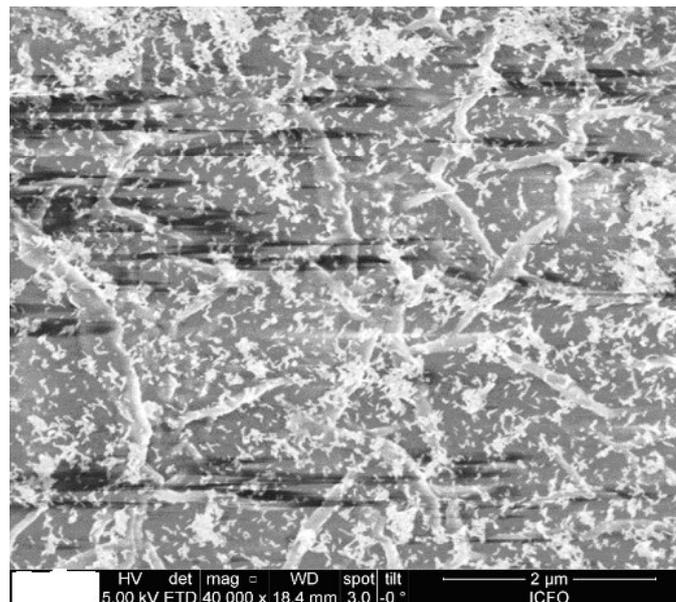


FIG 4

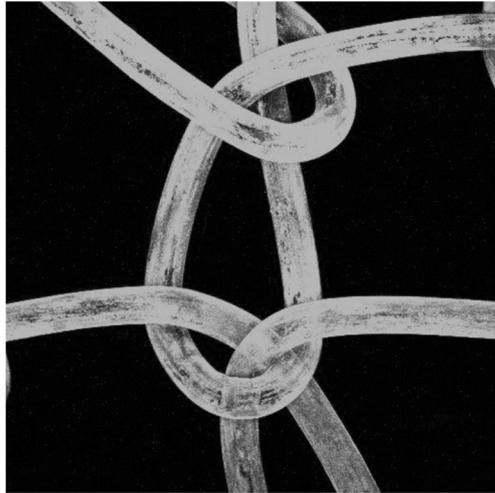
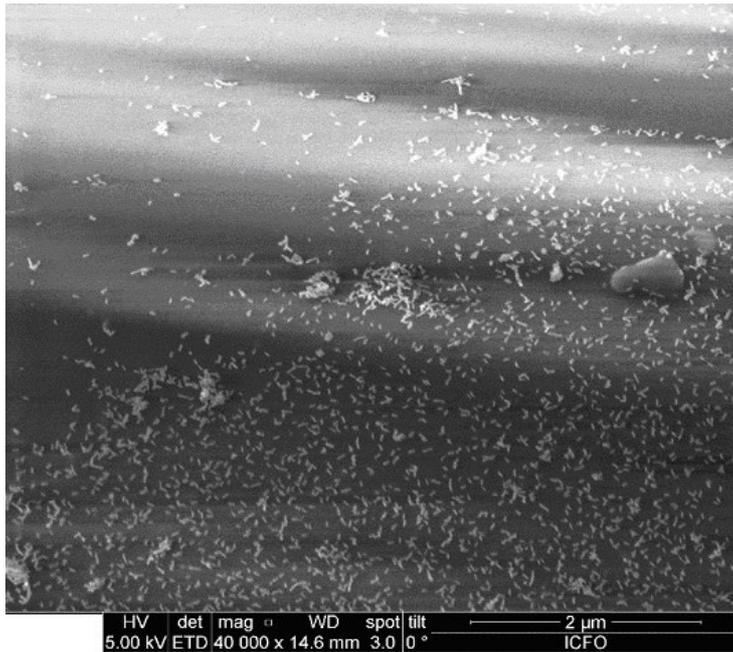


FIG 5



a)

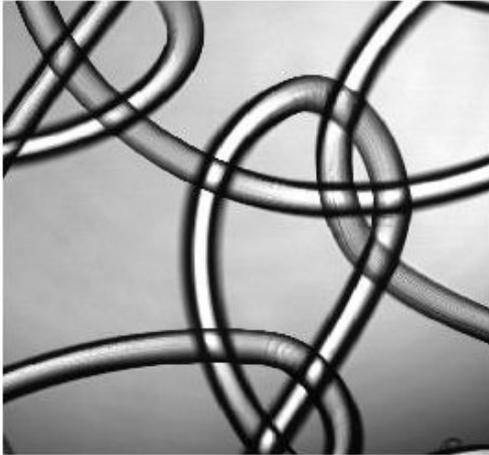


FIG 6

b)

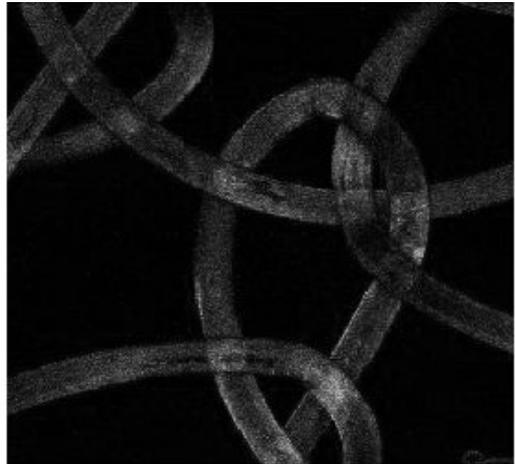


FIG 7

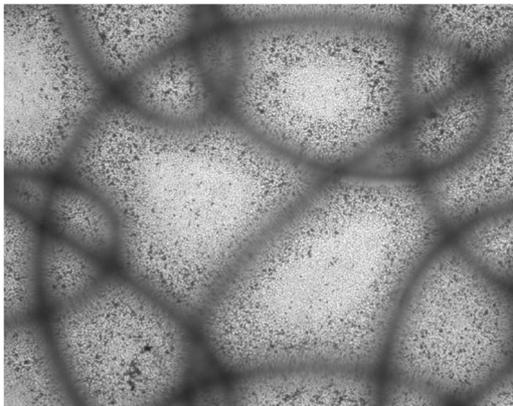


FIG 8

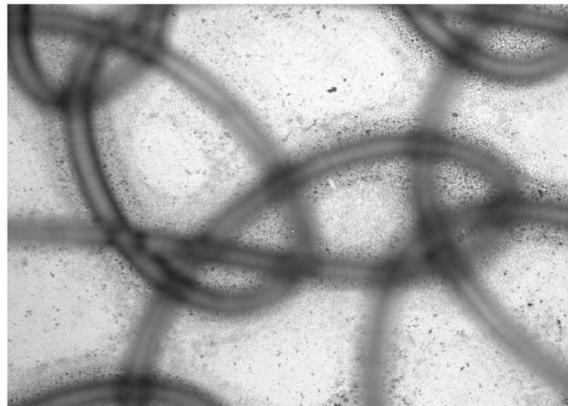


FIG 9

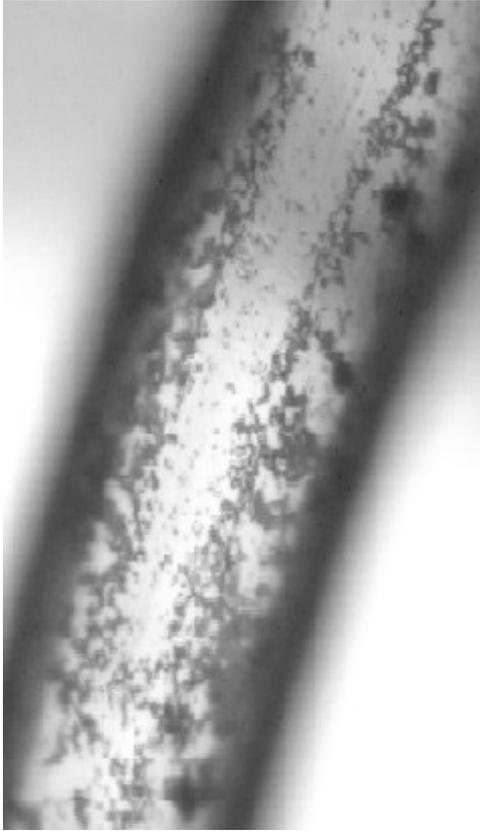


FIG 10

