

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual  
Oficina internacional



(10) Número de publicación internacional  
**WO 2017/191555 A1**

(43) Fecha de publicación internacional  
**09 de noviembre de 2017 (09.11.2017) WIPO | PCT**

- (51) Clasificación internacional de patentes:  
*A01N 59/00* (2006.01) *A61L 29/14* (2006.01)  
*A61L 27/56* (2006.01)
- (21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/IB2017/052537
- (22) Fecha de presentación internacional:  
02 de mayo de 2017 (02.05.2017)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:  
P20160101253  
03 de mayo de 2016 (03.05.2016) AR
- (71) Solicitantes: **CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET)** [AR/AR]; Godoy Cruz 2290 piso 10, Buenos Aires C1425FQB (AR). **COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA)** [AR/AR]; Av. del Libertador 8250, Buenos Aires C1429BNP (AR).
- (72) Inventor; y  
(71) Solicitante: **CATALANO, Paolo Nicolás** [IT/AR]; Neuquén 2681, Buenos Aires C1406FOW (AR).
- (72) Inventores: **BELLINO, Martin Gonzalo**; Lavoisier 3370, Buenos Aires C1431DTH (AR). **SOLER ILLIA, Galo Juan de Ávila Arturo**; Iberá 2458 1° "6", Buenos Aires C1429CMJ (AR). **COSTA, Cristina Susana**; Felipe Vallesse 1954 4°A, Buenos Aires C1406FSL (AR). **PIZARRO, Ramón Augusto**; Av. Santa Fe 3755, 11 "D", Buenos Aires C1425BGM (AR). **PEZZONI, Magdalena**; Aristóbulo del Valle 5155, Benavidez - Prov. de Buenos Aires 1621 (AR).
- (81) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,

(54) Title: USE OF A MESOPOROUS OXIDE FILM IN OBTAINING A TRANSPARENT AND ULTRA-THIN CERAMIC COATING WHICH INHIBITS THE FORMATION OF BACTERIAL BIOFILMS ON THE COATED SURFACE

(54) Título: USO DE UNA PELÍCULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA SUPERFICIE RECUBIERTA

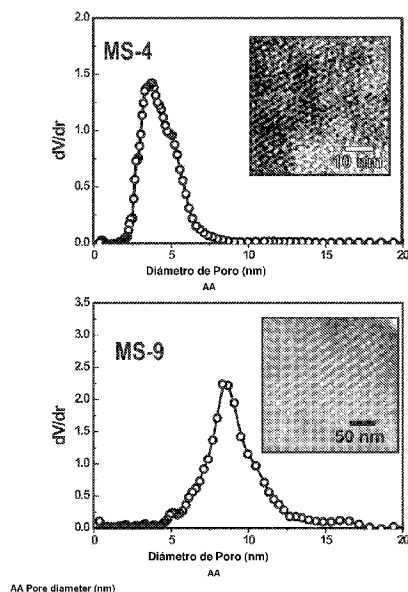


Figura 1

(57) Abstract: The invention relates to the use of a mesoporous oxide film, synthesized by the sol-gel technique, self-assembly of surfactants and removal of the structuring agent by calcination, having a pore size of between approximately 4 nm and approximately 9 nm, characterized in that it is used in obtaining a transparent and ultra-thin ceramic coating which inhibits the formation of bacterial biofilms on the coated surface, wherein the film is deposited on the surface by the dip coating or spin coating technique.

(57) Resumen: Se revela el uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un tamaño de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de dip coating o spin coating.



WO 2017/191555 A1

SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) Estados designados** *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publicada:**

- *con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))*
- *antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))*

**USO DE UNA PELÍCULA DE ÓXIDO MESOPOROSO, EN LA  
OBTENCIÓN DE UN RECUBRIMIENTO CERÁMICO  
TRANSPARENTE Y ULTRADELGADO QUE INHIBE LA  
FORMACIÓN DE BIOFILMS BACTERIANOS SOBRE LA  
SUPERFICIE RECUBIERTA**

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

El campo de los materiales mesoporosos ha evolucionado en las últimas décadas, desde el descubrimiento de los primeros materiales basados en sílice y moldeados a través de la incorporación de micelas como plantillas (Kresge et al., *Nature*, 1992, 359:710; Beck et al., *J Am Chem Soc*, 1992, 114:10834; Yanagisawa et al., *Bull Chem Soc Jpn*, 1990, 63:988). La posibilidad de combinar métodos de síntesis química suave con el autoensamblado molecular, ha abierto un amplio campo de investigación con aplicaciones sumamente interesantes (Soler-Illia et al. *Chem. Rev.* 2002, 102:4093-4138; Brinker et al., *Adv. Mater.* 1999, 11:579-585). De este modo, puede obtenerse una amplia gama de

materiales inorgánicos y matrices híbridas orgánicas-inorgánicas con una variedad de composición, diámetro de poros, funciones orgánicas o biológicas situadas en el esqueleto inorgánico, en los poros o en la superficie interior de dichos poros. El procesamiento de materiales mesoporosos como películas delgadas ofrece la oportunidad de crear novedosos recubrimientos que combinan las ventajas del control de la forma, simetría y diámetro de poro junto a sus posibles modificaciones superficiales, con destacadas propiedades ópticas y la posibilidad de ser aplicados sobre diferentes sustratos metálicos o cerámicos. En los últimos años, la producción de películas delgadas mesoporosas accesibles y funcionalizables, ya sea en donde la superficie de poros o el volumen de poros pueden ser modificados por diferentes grupos funcionales, moléculas biológicas o nanopartículas, ha sido extensamente explorada (Sanchez, et al. Chem. Mater. 2011, 20:682-737.; Innocenzi et al., Chem. Soc. Rev. 2013, 42:4198-4216).

Un biofilm es una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie. En el mismo, las bacterias u otros microorganismos se encuentran embebidos en una matriz (compuesta por agua y sustancias poliméricas) que les provee estabilidad estructural y protección frente a diferentes factores de estrés, tales como la falta de nutrientes, la desecación, la presencia de antibióticos o biocidas, etc. (Mah, et al Nature. 2003 426:306-310; Flemming, et al Nat. Rev. Microbiol. 2010 8:623-6332010). El fenómeno de adhesión bacteriana sobre superficies constituye sólo la primera etapa en la formación de un biofilm. La proliferación celular y la formación de una matriz compleja conforman la segunda etapa y distinguen a los biofilms de la simple adhesión de bacterias sobre superficies.

Los biofilms bacterianos pueden estar formados por una o múltiples especies bacterianas, presentando entre 10 a 1000 veces mayor resistencia a agentes antimicrobianos como antibióticos y otros agentes con respecto a bacterias libres o planctónicas (Mah y O'Toole, Trends in Microbiology 2001, vol 9). Los mismos pueden desarrollarse en una amplia variedad de superficies, siendo responsables de alrededor del 65% de las infecciones hospitalarias. Los biofilms pueden formarse en implantes médicos tales como catéteres, caderas artificiales, válvulas cardíacas y lentes de contacto, y su impacto en la medicina es relevante en el mundo entero por sus efectos perjudiciales en términos sanitarios y económicos (Nickel, et al Eur. J. Clin. Microbiol 1985 4:213-218; Willcox, et al Biomaterials 2001. 22:3235-3247). Por otra parte, el desarrollo de microorganismos en superficies de tipo industrial, como por ejemplo sistemas de cañerías de agua o de hidrocarburos, puede tener un efecto perjudicial sobre las mismas (Walker, J.T., Mackerness, C.W., Rogers, J. and Keevil, C.W. *Microbial Biofilms*. 1995. H.M. Lappin-Scott and J.W. Costerton (eds.). Cambridge University Press, Great Britain, 196-204; Lenhart T.R., et al, Biofouling 2014. 30:823-835). Además de generar "bioensuciamiento", los biofilms pueden promover reacciones físico-químicas produciendo corrosión del material que compone dichas cañerías. La provisión de biocidas representa una parte no despreciable dentro de los costos de ciertas industrias; sin embargo, la acción de estos compuestos suele resultar ineficiente debido a la alta resistencia de los biofilms a los tratamientos de erradicación. De todo lo expuesto se desprende que para combatir los biofilms resulta más conveniente evitar su formación que utilizar tratamientos físicos o químicos una vez que se han instalado.

Se requieren por lo tanto nuevas alternativas que provean factibilidad industrial, bajo costo y alta efectividad al momento de erradicar o evitar su formación. En este marco, a partir de la nanotecnología, la regulación de la topografía de una superficie resulta una propuesta promisoriosa en el desarrollo de estrategias para evitar la formación de biofilms. Con este objetivo se ha investigado la posibilidad de utilizar materiales mesoporosos, a partir de sustratos de titanio (Variola et al., *International Journal of Nanomedicine*, 2014, 9:2319-2325) y polvos microparticulados tratados químicamente (Izquierdo-Barba et al., *Acta Biomaterialia*, 2011, 7:2977-2985; Kinnari et al., *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2009, 89A:215-223). Sin embargo, estos estudios demostraron sólo efectos sobre la adhesión bacteriana sin demostrar efectos sobre la formación de biofilms bacterianos. Además, no se han descrito hasta el momento recubrimientos mesoporosos delgados que puedan inhibir la formación de biofilms bacterianos y que puedan aplicarse sobre diversas superficies sin alterar su calidad óptica. Es por lo tanto que sigue existiendo la necesidad de desarrollar recubrimientos delgados que inhiban la formación de biofilms bacterianos y que conserven su transparencia óptica para ser aplicados sobre superficies que así lo requieran.

#### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de

9 nm, en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**Figura 1.** Distribución de diámetros de poro de las películas mesoporosas de sílice empleadas en el estudio, obtenidas por isotermas de adsorción de agua. MS-4 y MS-9 corresponden a las películas sintetizadas con  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  (TEOS)/CTAB y  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  (TEOS)/F127, respectivamente. Los insertos representan imágenes de microscopía de transmisión de dichas películas.

**Figura 2.** Patrones representativos de Dispersión de Rayos X a bajo ángulo (2D SAXS) de las películas mesoporosas de sílice empleadas en el estudio. Se muestra la estructura hexagonal 3D en el caso de MS-4 (diámetro de poro de 4 nm) y la estructura cúbica en el caso de MS-9 (diámetro de poro de 9 nm).

**Figura 3.** Efecto anti-biofilm de las películas mesoporosas de sílice, en biofilms sumergidos y en biofilms formados en la interfase aire líquido (*air-liquid interfase* o ALI).

a) Número promedio de células viables (unidades formadoras de colonia o CFU) adheridas a las películas NMS (no mesoporosas), MS-4 y MS-9 luego de 4, 8 y 24 hs de incubación en medio de cultivo. b) Tinción con cristal violeta de biofilms crecidos sobre superficies NMS, MS-4 y MS-9 durante 24 hs. Se observan las imágenes de los

biofilms teñidos con cristal violeta, el cual fue eluido y cuantificado midiendo absorbancia a 575 nm. c) Cuantificación de sustancias poliméricas extracelulares (polisacáridos, proteínas y ADN) presentes en la matriz de biofilms de 24 hs crecidos sobre superficies NMS, MS-4 y MS-9. Los asteriscos demuestran diferencias significativas entre MS-9 y NMS (test t de Student): \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,003$ .

**Figura 4.** Imágenes de microscopía electrónica de barrido de biofilms de 24 hs crecidos sobre películas NMS, MS-4 y MS-9. La barra representa 5  $\mu\text{m}$ .

#### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

Aunque existen reportes previos donde se describen los efectos de materiales mesoporosos sobre la adhesión bacteriana, éstos se refieren a la utilización de sustratos de titanio y polvos microparticulados, sin mostrar resultados concluyentes al respecto. Por el contrario, de acuerdo con la presente invención, el recubrimiento cerámico que aquí se revela puede ser aplicado sobre diversas superficies produciendo no sólo la inhibición de la adhesión bacteriana sino también la inhibición de la formación de biofilms bacterianos. Asimismo, el recubrimiento cerámico de la invención puede encontrarse en forma de una lámina ultradelgada, transparente, inerte, de bajo costo, escalable y robusta sin modificar la apariencia original de la superficie sobre la cual es depositado, no alterando las propiedades ópticas del material.

La presente invención se refiere al uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un

diámetro de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la lámina se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*. De acuerdo con la presente invención, se entiende como técnica de *dip coating* al proceso de recubrimiento por inmersión donde el sustrato es introducido en una solución precursora y retirado a velocidad controlada. Asimismo, se entiende como técnica de *spin coating* al proceso donde se deposita una cantidad de solución precursora sobre el sustrato y luego éste se rota a gran velocidad para lograr una distribución uniforme de la solución por fuerza centrífuga.

En una realización particular de la invención, se utiliza una película mesoporosa de sílice sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, con el objeto de proporcionar actividad anti-biofilm a la superficie recubierta con dicha película mesoporosa. Por un lado, dicha película mesoporosa de sílice se utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, cuando dicha superficie se encuentra sumergida en el medio de cultivo bacteriano. Por otro lado, dicha película mesoporosa de sílice se utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la interfase aire-líquido de la superficie recubierta.

De acuerdo con la invención, el recubrimiento con la película mesoporosa de sílice, no modifica la apariencia original de la superficie sobre la que es depositada.

Por otra parte, es un objeto particular de la invención el uso de una película mesoporosa de sílice para inhibir la

formación de biofilms bacterianos. En realizaciones más particulares, se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos producidos por bacterias que pertenecen a la especie *Pseudomonas aeruginosa*. Este microorganismo es un relevante patógeno oportunista en humanos caracterizado por la formación de robustos biofilms relacionados con procesos de patogénesis y biocorrosión industrial. Se lo considera como organismo modelo para estudios con biofilms.

El recubrimiento cerámico de la invención puede ser aplicado comercialmente en centros de salud y otros lugares donde se requieran superficies libres de bacterias, por ejemplo, instalaciones de procesamiento de alimentos o biomédicas, áreas de juego y comedores. Las películas descritas en la presente invención podrían aplicarse sobre superficies cerámicas de lavabos, azulejos y baños o superficies de vidrio en puertas, ventanas y utensilios de cocina. Las películas también podrían aplicarse a superficies metálicas de grifos y picaportes, y equipamiento e instrumentos médicos.

Las películas mesoporosas (4 y 9 nm de diámetro de poro) se obtuvieron combinando la síntesis de óxidos por química sol-gel, controlando la hidrólisis y condensación de los precursores inorgánicos, con el autoensamblado de tensioactivos o copolímeros, que actúan como moldes de poro. Los compuestos de partida para la síntesis fueron  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  (TEOS) y surfactantes iónicos (CTAB) y tensioactivos poliméricos de tipo POE-POP-POE (serie Pluronic-F127). Luego de tratamientos de post-estabilización a humedad y temperatura controladas, se eliminó el agente estructurante por calcinación obteniendo las películas porosas.

El funcionamiento de la invención ha sido demostrado mediante ensayos de formación de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, empleando superficies no porosas como control. Se ensayaron dos sistemas diferentes de formación de biofilm: sumergidos e interfase aire-líquido, y se evaluó la formación del mismo a distintos tiempos. Los resultados obtenidos demostraron una significativa inhibición de adhesión celular y formación de biofilm en las superficies recubiertas con la película mesoporosa en comparación a superficies no porosas, ya sea de sílica no porosa o de vidrio.

Así, mediante la presente invención, resulta posible combatir biofilms de bacterias no deseables, los cuales pueden transformarse en un peligroso foco de infección perjudicial para la salud o generar corrosión o bioensuciamiento cuando se encuentran depositados en una superficie. El recubrimiento cerámico transparente de la invención, presenta una gran resistencia mecánica y puede ser aplicado sobre superficies cerámicas o metálicas, sin alterar sus propiedades ópticas.

Entre dichas superficies podemos mencionar aquellas destinadas a establecimientos sanitarios o alimentarios, como hospitales, restaurantes o frigoríficos; incluso hogares, enseres de utilización doméstica, incluyendo elementos sanitarios y electrodomésticos.

#### **EJEMPLOS DE REALIZACIÓN**

##### Obtención de las películas mesoporosas

Se obtuvieron películas mesoporosas de sílice sobre portaobjetos de vidrio (soporte), siguiendo procesos reportados en la bibliografía, en los cuales se combina la

síntesis de óxidos por química sol-gel (control de la hidrólisis y condensación de los precursores inorgánicos), con el autoensamblado de tensioactivos o copolímeros (que actúan como moldes de poro). Los compuestos de partida para la síntesis fueron  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  (TEOS) y surfactantes iónicos (CTAB) y tensioactivos poliméricos de tipo POE-POP-POE (serie Pluronic-F127). Luego de tratamientos de post-estabilización a humedad y temperatura controladas, se eliminó el agente estructurante por calcinación obteniendo las películas mesoporosas. (El procedimiento se describe, por ejemplo, en G. J. A. A. Soler-Illia y col., "Mesoporous hybrid and nanocomposite thin films. A sol-gel toolbox to create nanoconfined systems with localized chemical properties", *J Sol-Gel Technol*, 2011, 57, 299-312, el cual se adjunta a la presente, como referencia, en su totalidad).

#### Caracterización de las películas mesoporosas

La caracterización exhaustiva de los recubrimientos mesoporosos resulta fundamental, ya que las propiedades de las películas mesoporosas dependen fuertemente de su estructura de poros. Los resultados que permiten caracterizar perfectamente las películas mesoporosas descritas se resumen en la Figura 1, Figura 2 y Tabla 1. MS-4 y MS-9 corresponden a las películas sintetizadas con  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  (TEOS)/CTAB y  $\text{Si}(\text{OEt})_4$  (TEOS)/F127, respectivamente. Los números 4 y 9 son indicativos del diámetro promedio de poro presente (Figura 1) que depende del tipo de surfactante utilizado. En la Figura 2 se muestra la estructura hexagonal 3D para las películas MS-4 y la estructura cúbica para las películas MS-9.

Por otra parte, en la Tabla 1 también se pueden observar otros datos estructurales de MS-4 y MS-9 como la porosidad

y el espesor, así como el ángulo de contacto que es un indicador de hidrofobicidad de las películas utilizadas.

**Tabla 1.** Datos estructurales y medidas del ángulo de contacto (indicador de hidrofobicidad) de las películas empleadas en este estudio. MS-4 y MS-9 corresponden a las películas con un diámetro promedio de poro de 4 o 9 nm, respectivamente. Se utilizaron además películas no mesoporosas como control (NMS), sintetizadas mediante el mismo procedimiento que las mesoporosas pero sin la incorporación del surfactante que permite la formación de los mesoporos.

Tipo de película	Tamaño de poro (nm)	Porosidad (%)	Espesor (nm)	Ángulo de contacto (°)
NMS	-	5 ± 0.5	93 ± 1	23.0 ± 1
MS-4	4.1 ± 0.5	42 ± 2	150 ± 1	16.0 ± 1
MS-9	9.2 ± 0.8	37 ± 2	100 ± 1	28.0 ± 2

#### Inhibición de la formación de biofilms bacterianos por parte de las películas mesoporosas de acuerdo con la invención

Los estudios de actividad anti-biofilm de las películas de acuerdo con la invención, se llevaron a cabo empleando la cepa prototípica de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Este microorganismo es un relevante patógeno oportunista en humanos caracterizado por la formación de robustos biofilms relacionados con procesos de patogénesis y corrosión industrial. Se lo considera como organismo modelo para estudios con biofilms. Se presentan datos cuantitativos obtenidos mediante recuento de unidades formadoras de

colonias (UFC). Se emplearon dos sistemas de formación de biofilms: sumergido y ALI. En el primer sistema los recubrimientos fueron sumergidos totalmente en el caldo de cultivo bacteriano favoreciendo la formación de biofilms sobre toda la superficie, mientras que en el segundo sistema, denominado ALI, los recubrimientos fueron colocados en forma vertical dejando una porción de la misma fuera del medio de cultivo bacteriano favoreciendo la formación de biofilm en la interfase aire-líquido. Para los recubrimientos basados en las películas mesoporosas se observó una disminución significativa de células viables luego de 8 y 24 hs de incubación con inóculos de aproximadamente  $10^8$  bacterias/mL) (Figura 3a). Además, la cuantificación realizada por tinción con cristal violeta (Figura 3b) demostró claramente la inhibición en la formación de biofilm sobre las películas mesoporosas. También se observó una disminución en los niveles de sustancias poliméricas extracelulares de la matriz (polisacáridos, proteínas y ADN) sobre las películas mesoporosas (Figura 3c). Asimismo, las imágenes de microscopía electrónica de barrido muestran un menor número de células adheridas sobre la superficie de las películas mesoporosas (Figura 4). En todos los casos, el efecto inhibitorio sobre la formación de biofilms bacterianos fue mayor en el caso de MS-9, en ambos sistemas estudiados (sumergido y ALI).

De los resultados expuestos puede observarse que los recubrimientos cerámicos mesoporosos de acuerdo con la presente invención inhiben significativamente el desarrollo de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, tanto en sistema sumergido como ALI.

En la literatura especializada, se describe que las películas mesoporosas pueden ser sintetizadas sobre

diversas superficies cerámicas y metálicas (Sanchez, et al. Chem. Mater. 2011, 20:682-737.; Innocenzi et al., Chem. Soc. Rev. 2013, 42:4198-4216). Por lo que cualquiera de estos materiales cerámicos y metálicos, ofrecerían el mismo efecto inhibitorio sobre la formación de biofilms bacterianos que aquí se menciona, al ser recubiertos con las películas mesoporosas reveladas en esta invención.

## REIVINDICACIONES

1. Uso de una película de óxido mesoporoso, sintetizada mediante la técnica de sol-gel, autoensamblado de surfactantes y eliminación del agente estructurante mediante calcinación, que presenta un tamaño de poro de entre alrededor de 4 nm y alrededor de 9 nm, caracterizada porque se la utiliza en la obtención de un recubrimiento cerámico transparente y ultradelgado que inhibe la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, en donde la película se deposita sobre la superficie mediante la técnica de *dip coating* o *spin coating*.

2. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para recubrir una superficie, con el objeto de proporcionar actividad antibiofilm a dicha superficie.

3. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la superficie recubierta, cuando dicha superficie se encuentra sumergida.

4. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos en la interfase aire-líquido de la superficie recubierta.

5. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque no modifica la apariencia original de la superficie sobre la que es depositada.

6. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque se la utiliza para inhibir la formación de biofilms bacterianos producidos por bacterias que pertenecen a la especie *Pseudomonas aeruginosa*.

7. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los óxidos utilizados son por ejemplo  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$  o sus combinaciones.

8. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los surfactantes utilizados para su síntesis pertenecen al grupo de tensioactivos poliméricos no iónicos o tensioactivos iónicos.

9. Uso de una película de óxido mesoporoso, de acuerdo con la reivindicación anterior, caracterizada porque los tensioactivos poliméricos no iónicos corresponden al tipo POE-POP-POE y los tensioactivos iónicos al tipo sal de amonio cuaternario.

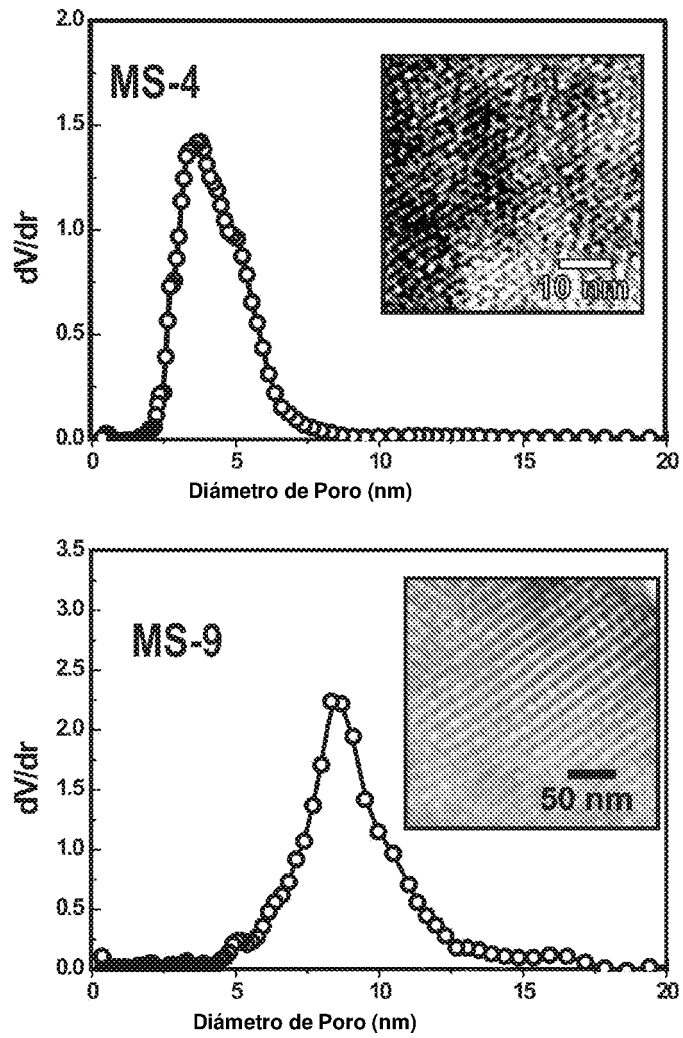


Figura 1

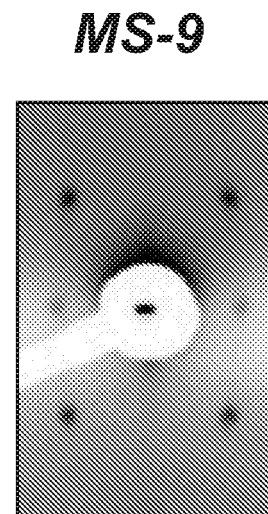
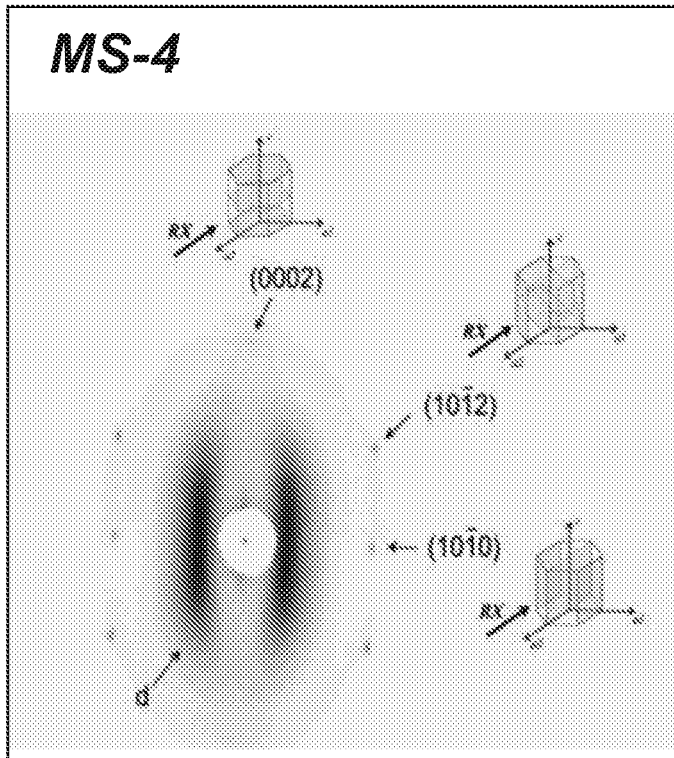


Figura 2

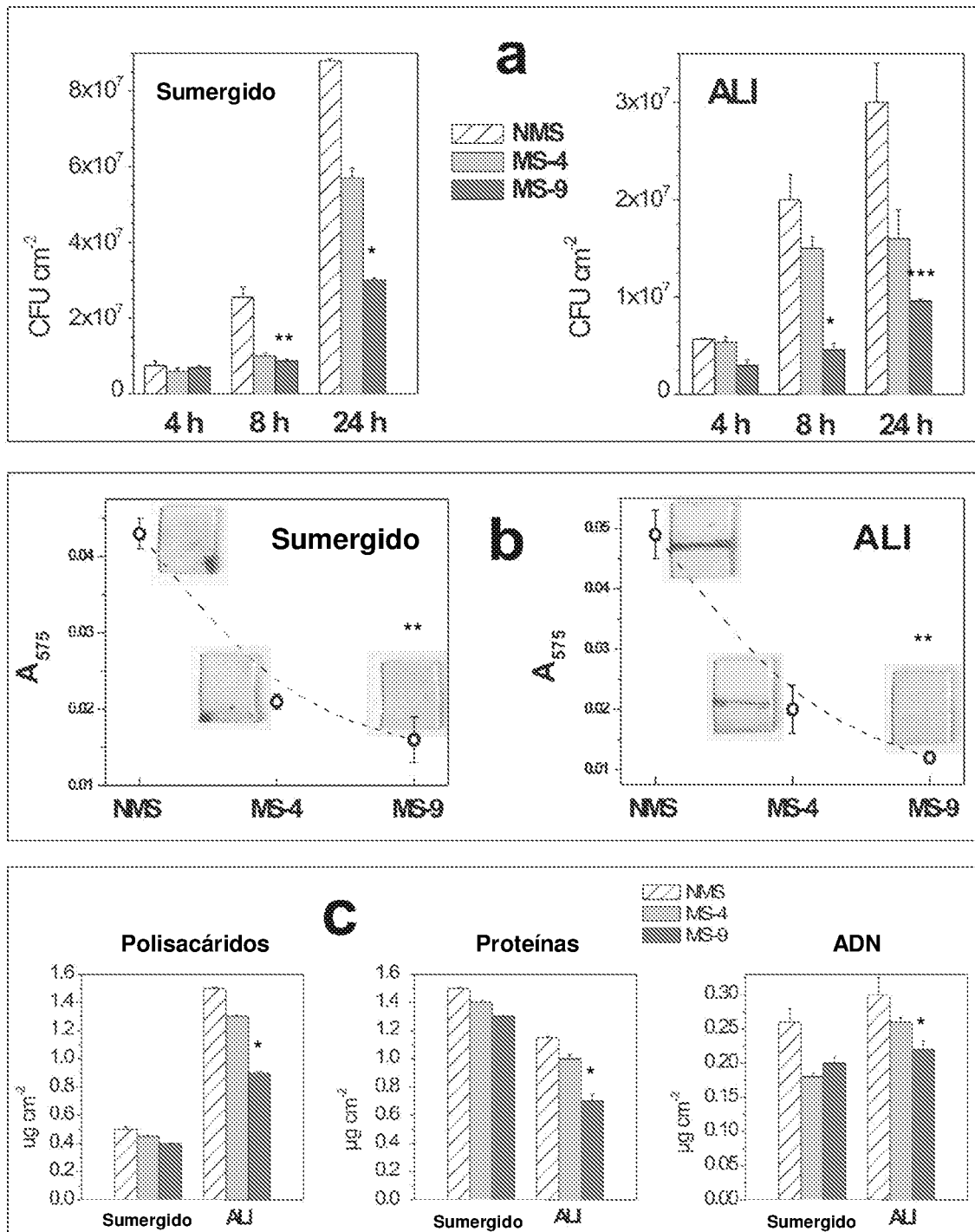


Figura 3

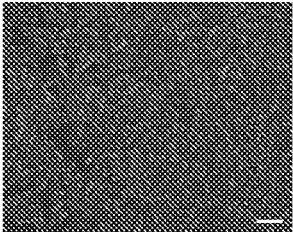
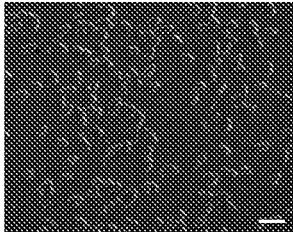
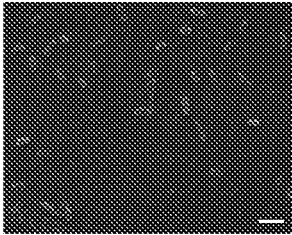
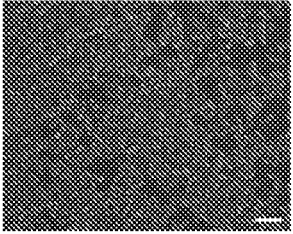
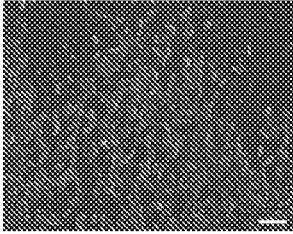
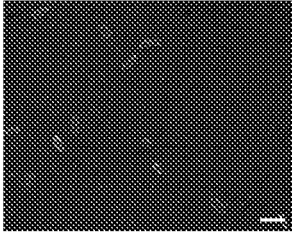
Tipo de Biofilm	Tipo de superficie		
	NMS	MS-4	MS-9
Sumergido			
ALI			

Figura 4

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

**PCT/IB2017/052537**

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**INV. A01N59/00 A61L27/56 A61L29/14**

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

**A01N A61L**

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

**EPO-Internal, WPI Data**

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X,P	<p>PEZZONI MAGDALENA ET AL: "Antibiofilm effect of supramolecularly templated mesoporous silica coatings", MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING C, ELSEVIER SCIENCE S.A, CH, vol. 77, 7 Abril 2017 (2017-04-07), Páginas 1044-1049, XP085028616, ISSN: 0928-4931, DOI: 10.1016/J.MSEC.2017.04.022</p> <p>Todo el documento</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	1-9

En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos  Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&amp;" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.	Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional
11 Octubre 2017	17 Octubre 2017

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional	Funcionario autorizado
<p>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2                  NL - 2280 HV Rijswijk                  Tel. (+31-70) 340-2040,                  Fax: (+31-70) 340-3016</p>	<b>Johnson, Claire</b>
N° de fax	N° de teléfono

**INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

Solicitud internacional N°

PCT/IB2017/052537

C (continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
X	<p>MARTIN ANDERSSON ET AL: "Antimicrobial performance of mesoporous titania thin films: role of pore size, hydrophobicity, and antibiotic release", INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE, 1 Marzo 2016 (2016-03-01), Páginas 977 , XP055414391, DOI: 10.2147/IJN.S95375 Página 978, línea 1 - línea 15; Figuras 9A, 9B Página 979, línea 1- línea 30 -----</p>	1-9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2017/052537
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A01N59/00      A61L27/56      A61L29/14 ADD.				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A01N A61L				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data				
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X,P	PEZZONI MAGDALENA ET AL: "Antibiofilm effect of supramolecularly templated mesoporous silica coatings", MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING C, ELSEVIER SCIENCE S.A, CH, vol. 77, 7 April 2017 (2017-04-07), pages 1044-1049, XP085028616, ISSN: 0928-4931, DOI: 10.1016/J.MSEC.2017.04.022 the whole document  ----- -/--	1-9		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
* Special categories of cited documents : <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none; vertical-align: top;">                     "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                      "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date                      "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)                      "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means                      "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                 </td> <td style="width: 50%; border: none; vertical-align: top;">                     "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention                      "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone                      "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art                      "&amp;" document member of the same patent family                 </td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report			
11 October 2017	17/10/2017			
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Johnson, Claire			

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No PCT/IB2017/052537
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>MARTIN ANDERSSON ET AL: "Antimicrobial performance of mesoporous titania thin films: role of pore size, hydrophobicity, and antibiotic release", INTERNATIONAL JOURNAL OF NANOMEDICINE, 1 March 2016 (2016-03-01), page 977, XP055414391, DOI: 10.2147/IJN.S95375 page 978, line 1 - line 15; figures 9A, 9B page 979, line 1 - line 30 -----</p>	1-9