



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2017 00919

(22) Data de depozit: 09/11/2017

(41) Data publicării cererii:  
30/05/2019 BOPI nr. 5/2019

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
CHIMIE ȘI PETROCHIMIE - ICECHIM,  
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR.202,  
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:  
• FIERĂSCU RADU CLAUDIU,  
STR. DUNĂRII, BL. D4, ET. 4, AP. 18,  
ROȘIORII DE VEDE, TR, RO;

• FIERĂSCU IRINA,  
STR. CÂMPIA LIBERTĂȚII NR. 5, BL. PM60,  
SC. A, AP. 48, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• MOANȚĂ ADRIANA, STR. BÎRNOVA NR.5,  
BL.M 117, SC.1, AP.3, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• PETRE IONELA, BD.GHENCEA NR.30,  
BL.C 76, SC.3, ET.4, AP.92, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) SOLUȚIE ANTIMICROBIANĂ PULVERIZABILĂ UTILIZATĂ  
PENTRU TRATAREA, CONSOLIDAREA ȘI PROTECȚIA  
SUPRAFEȚELOR ANORGANICE ALE CLĂDIRILOR ȘI/SAU  
MONUMENTELOR ISTORICE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o suspensie pulverizabilă utilizată pentru consolidarea și protecția antimicrobiană a suprafețelor anorganice ale clădirilor și/sau monumentelor istorice. Suspensia, conform invenției, este constituită din 2...5 g/l substanță activă de tip hidroxiapatită  $Ca_{11}(PO_4)(OH)_2$ , în care Ca a fost parțial dizlocuit cu Ag, în raport Ca/Ag de 0,66, dispersat în soluție de alcool

izopropilic 70%, având activitate antimicrobiană față de tulpina Gram-negativă *S.aureus* și Gram-positivă *P. aeruginosa*.

Revendicări: 4  
Figuri: 1



24

OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2017 00919
Data depozit 09-11-2017

## SOLUTIE ANTIMICROBIANĂ PULVERIZABILĂ UTILIZATĂ PENTRU TRATAREA, CONSOLIDAREA ȘI PROTECȚIA SUPRAFETELOR ANORGANICE ALE CLĂDIRILOR ȘI/SAU MONUMENTELOR ISTORICE

Prezenta invenție se referă la o soluție antimicrobiană, pulverizabilă, pe bază de hidroxiapatită cu substituție parțială a calciului cu argint, destinată tratării, consolidării și protecției suprafețelor anorganice de clădiri și/sau monumente istorice.

Materialele de construcții sunt expuse la poluanți de mediu (anorganici și organici), factori climatici (temperatură, umiditate, ploaie și alte precipitații, expunerea la soare) și tratamente chimice (biocide, tensioactivi și compuși hidrofobi), la care se adaugă factorii de ordin biologic, dacă luăm în considerare riscul dezvoltării și întreținerii unor infecții cu tulpini nosocomiale în spațiile destinate îngrijirii și recuperării bolnavilor. Alterările fizice sau mecanice, chimice dar și cele de ordin estetic sunt primele simptome ale daunelor, și sunt cauzate de acțiuni sinergice ale factorilor de mediu și factorilor biologici (activitatea metabolică a diferitelor specii microbiene) din structura clădirilor sau monumentelor. Condițiile create de umezeală și nutrienți favorizează dezvoltarea microorganismelor. Microorganismele dezvoltate pe suprafața sau chiar în profunzimea zidurilor de construcții sunt responsabile de deteriorarea structurii acestora, a decorațiunilor și în plus afectează calitatea mediului din interior, în final având efecte negative grave asupra sănătății umane (dezvoltarea unor afecțiuni alergice, infecții respiratorii, infecții cutanate, boli autoimune).

Tratarea zidăriei clădirilor afectate cu ingrediente active precum pentaclorofenol (PCP), tributinil oxid (TBTO), carboxilat de zinc sau boro-esteri a fost în ultimul timp restricționată, ca urmare a efectelor toxice asupra omului și animalelor.

Regulamentele CE (BPD 98/8 / CE din 20 iunie 2004) au condus la eliminarea de pe piață a compușilor cei mai activi (și toxici) utilizați în tratarea suprafețelor expuse la eroziunea biologică sub acțiunea microorganismelor, astfel încât au fost necesare noi abordări în mai multe sectoare pentru a oferi soluții alternative.

Este cunoscută din brevetul "*Antimicrobial cementitious composition*" **US 7223443 B2** folosirea orto-fenil fenolului, a sării acestuia, tolil diiodometil sulfonă, zinc pyrithione, oxathiazine, azole, chlorothalonil, și triazine diamine, precum și combinațiile dintre aceștia, ca agenți *antimicrobieni încorporați* în cimenturi de construcție.

Brevetul "*Antimicrobial composition*" **US 5698229 A** revendică folosirea unui compus anorganic pe care este susținut ionul de argint și un compus organic (conținând hidrogen sau o grupare alchil inferior, respectiv hidrogen sau un metal alcalin) compusul anorganic fiind reprezentat cu următoarea formulă:  
$$Ag_a M^1_b M^2_2 (PO_4)_3 \times n H_2O.$$

Se cunoaște din brevetul "*Antimicrobial treatment of porous materials*" **US 20020168473 A1** un material poros tratat antimicrobian și un *procedeu pentru impregnarea* materialelor poroase *cu polimeri antimicrobieni* utilizând medii supercritice.

Conform brevetului "*Antimicrobial Cementitious Compositions*" **EP 1 786 873 B1** se revendică un **agent antimicrobial pe bază de ortofenil fenol de sodiu**, prezent într-o cantitate de la 1000 ppm la 3000 ppm, iar compoziția tratată este *stucco*.

**Scopul** invenției este obținerea unei soluții antimicrobiene, pulverizabile, pe bază de hidroxiapatită cu substituție parțială a calciului cu argint, destinată tratării, consolidării și protecției suprafețelor anorganice de clădiri și/sau monumente istorice.

**Problema tehnică pe care o rezolvă** invenția constă în obținerea unei soluții pulverizabile cu dublu rol – de consolidare și protecție antimicrobiană a construcțiilor (fie ele clădiri sau monumente istorice).

Soluția propusă, conform invenției, **înlătură dezavantajele** menționate mai sus prin aceea că utilizează compuși a căror sinteză este rapidă, economică, și fără acțiune negativă asupra mediului și sănătății umane.

Soluția pulverizabilă, conform invenției, este formată dintr-un compus de tipul hidroxiapatitei,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , în care calciul a fost parțial dizlocuit cu argint, dispersat în soluție de alcool izopropilic (70%) în concentrații variabile 2 ... 5g/L. Raportul Ag/Ca este 0,66.

Pentru obținerea soluției pulverizabile, materialul solid (sub formă de pulbere) se mojarază până la obținerea unor particule cu dimensiuni sub 45  $\mu\text{m}$  și se dispersează în soluție de alcool izopropilic (70%), în concentrații variabile între 2..5 g/L. Suspensiile sunt ulterior ultrasonate direct în recipientul pulverizator timp de 15 minute, la frecvența de 20 kHz, amplitudine 80%. În prezenta cerere sunt prezentate rezultatele obținute pentru două tipuri de suspensii: suspensia denumită în continuare **S1** este obținută prin mojararea repetată a două grame material solid până la obținerea de dimensiuni sub 45  $\mu\text{m}$ , urmate de dispersarea în soluție de alcool izopropilic (70%); suspensia denumită în continuare **S2** este obținută prin mojararea repetată a cinci grame material solid până la obținerea de dimensiuni sub 45  $\mu\text{m}$ , urmate de dispersarea în soluție de alcool izopropilic (70%).

**Se dau în continuare patru exemple de aplicare a invenției.**

Soluțiile au fost pulverizate pe suprafața unor materiale de tipul: ipsos modelaj (**M1**); mortar de var (**M2**) și mortar de ciment (**M3**) cu ajutorul unui recipient cu pulverizator, cantitatea pulverizată fiind de 0.3 ml. Determinarea acțiunii antimicrobiene a suspensiilor a fost realizată pe tulpinile microbiene *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 și *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, conform standardului *M100, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 27th Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute antimicrobial susceptibility testing*.

Pentru realizarea experimentului au fost realizate 2 pasaje succesive, prin trecerea tulpinilor bacteriene pe mediu geloză nutritivă și incubare timp de 24 h, la 37°C. Din cultura tânără s-a realizat o suspensie celulară în mediu bulion nutritiv (suspensia de lucru) cu densitate celulară la valoarea finală de  $1,5 \times 10^5$  UFC/ml (Unități Formatoare de Colonii/ml).

#### **Exemplul 1**

Pentru evaluarea calitativă a activității antimicrobiene a suspensiilor s-au folosit suspensiile **S1** și **S2**, pentru fiecare specie bacteriană testată realizându-se un inocul cu densitate standard 0,5 MacFarland

( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml), în AFS (apă fiziologică sterilă). Inoculul a fost însămânțat în pânză, cu tamponul steril, la suprafața mediu LB solid. Ulterior, peste inocul, s-au repartizat în spot, câte 10  $\mu$ l suspensie **S1** și **S2**. Plăcile au fost lasate în repaus la temperatura camerei pentru adsorbția picăturii de suspensie în mediu, după care plăcile au fost incubate la 37°C, cu capacul în jos, timp de 24 de ore. Activitatea inhibitorie a fost evaluată prin apariția unei zone de inhibare a creșterii în jurul fiecărui spot, utilizându-se ca martor amestecul apă/alcool izopropilic (mediul de suspensie utilizat). Aspectul zonelor de inhibiție a creșterii microbiene este prezentat în figura 1.

Testarea activității antimicrobiene a suspensiilor **S1** și **S2** a evidențiat un puternic efect microbicid atât față de tulpina *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (gram-pozitivă), cât și față de tulpina *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (gram-negativă). Diametrul zonelor de inhibiție a creșterii a fost de 33 mm (pentru **S1**) și 35 de mm (**S2**), pentru ambele tulpini. Proba martor (**M**) reprezentată de amestecul apă/alcool izopropilic nu a manifestat nici un efect inhibitor asupra creșterii și multiplicării celor două tulpini bacteriene.

### Exemplul 2

În tabelul 1 sunt prezentate rezultatele obținute în cazul tratării ipsosului de modelaj (**M1**) cu soluțiile antimicrobiene **S1** și **S2**

Tabelul 1

Material/Rezultat	Activitate anti-aderență (log UFC/mL)		Activitate microbicidă (log UFC/mL)	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Martor de creștere	-	-	$2.133 \times 10^8$	$6.66 \times 10^9$
<b>M1</b> netratat	$1.5 \times 10^6$	$1.03 \times 10^7$	$1.866 \times 10^9$	$2.166 \times 10^{10}$
<b>M1</b> tratat cu solvent	$5 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$0.6 \times 10^9$	$6.66 \times 10^9$
<b>M1</b> tratat cu <b>S1</b>	$2.6 \times 10^6$	$7.66 \times 10^6$	$1.033 \times 10^{11}$	$1.266 \times 10^{10}$
<b>M1</b> tratat cu <b>S2</b>	$2.6 \times 10^2$	$1.66 \times 10^5$	$7.33 \times 10^7$	$2.66 \times 10^9$

Tratarea cu soluțiile pulverizabile nu a influențat semnificativ capacitatea de aderare a tulpinii Gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, pentru care reducerea logaritmică a valorilor UFC/ml atât pentru **S1** cât și pentru **S2** a fost sub 4 unități, comparativ cu martorul de material netratat și tratat cu solvent (conform indicațiilor din standardul ISO 22196:2007(E)). În cazul speciei Gram-pozitive *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, reducerea logaritmică a valorilor UFC/ml pentru materialul tratat cu suspensia **S2** a fost semnificativă, de peste 4 unități, comparativ cu martorul de material netratat, tratat cu solvent și tratat cu suspensia **S1**. Din aceste rezultate, se deduce efectul anti-aderență al acestor materiale tratate, etapata de aderență a celulelor bacteriene la diferite suprafețe fiind prima etapă în procesul de generare a unui biofilmului. Aceasta observație susține ipoteza utilizării soluțiilor pulverizabile în aplicarea tratamentelor antimicrobiene pe suprafețe expuse contaminării.

Pierderea de rezistență a materialului **M1**, după 25 de cicluri de îngheț/dezgheț este prezentată în tabelul 2. Materialele au fost tratate prin pulverizare o dată (probele cu superscript 1), respectiv de două ori, la un interval de 24 de ore (probele cu superscript 2) cu solventul utilizat (soluție alcool izopropilic), respectiv soluțiile **S1** și **S2**.

Tabelul 2

Material/Rezultat	Pierdere de rezistență, %
Martor netratat– M1	-
M1 tratat cu solvent <sup>1</sup>	12,12
M1 tratat cu S1 <sup>1</sup>	10,81
M1 tratat cu S2 <sup>1</sup>	9,91
M1 tratat cu solvent <sup>2</sup>	10,57
M1 tratat cu S1 <sup>2</sup>	6,88
M1 tratat cu S2 <sup>2</sup>	5,49

Pentru ambele variante de lucru se observă o tendință de reducere a pierderii de rezistență pentru materialul tratat, mai evidentă în cazul tratării cu S2.

### Exemplul 3

În tabelul 3 sunt prezentate rezultatele obținute în cazul tratării mortarului de var (M2) cu soluțiile antimicrobiene S1 și S2

Tabelul 3

Material/Rezultat	Activitate anti-aderență (log UFC/mL)		Activitate microbicidă (log UFC/mL)	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Martor de creștere	-	-	2.133x10 <sup>8</sup>	6.66x10 <sup>9</sup>
M2 netratat	2	2	2	6.6x10 <sup>8</sup>
M2 tratat cu solvent	2	2	2	3.3x10 <sup>3</sup>
M2 tratat cu S1	2	2	2	2
M2 tratat cu S2	2	2	2	2

Pentru mortarul de var (M2) nu a putut fi apreciat gradul de îmbunătățire a activității anti-aderență după tratarea cu cele două suspensii, deoarece toate probele, inclusiv martorii, au inhibat aderența celulelor bacteriene atât al tulpinii Gram-pozitive cât și al tulpinii Gram-negative. –

Evaluarea cantitativă a efectului antimicrobian al materialelor testate prin determinarea valorii UFC/ml pentru celulele bacteriene planctonice viabile, prezente în suspensie în mediul de cultură a evidențiat faptul că probele M2, în toate variantele de lucru, au exercitat efect microbicid asupra ambelor specii bacteriene testate. Explicația ar putea fi dată de faptul că din literatură se cunoaște efectul antimicrobian al varului, care cu siguranță, a fost potențat de prezența celor două suspensii S1 și S2.

Pierdere de rezistență a materialului M2, după 25 de cicluri de îngheț/dezghet este prezentată în tabelul 4. Materialele au fost tratate prin pulverizare o dată (probele cu superscript 1), respectiv de două ori, la un interval de 24 de ore (probele cu superscript 2) cu solventul utilizat (soluție alcool izopropilic), respectiv soluțiile S1 și S2.

Tabelul 4

Material/Rezultat	Pierdere de rezistență, %
Martor netratat– M2	-
M2 tratat cu solvent <sup>1</sup>	17,46
M2 tratat cu S1 <sup>1</sup>	13,49
M2 tratat cu S2 <sup>1</sup>	8,73

<b>M2 tratat cu solvent<sup>2</sup></b>	13,23
<b>M2 tratat cu S1<sup>2</sup></b>	9,79
<b>M2 tratat cu S2<sup>2</sup></b>	6,08

Pentru ambele variante de lucru se observă o tendință de reducere a pierderii de rezistență pentru materialul tratat, mai evidentă în cazul tratării cu **S2**.

#### Exemplul 4

În tabelul 5 sunt prezentate rezultatele obținute în cazul tratării mortarului de ciment (**M3**) cu soluțiile antimicrobiene **S1** și **S2**

Tabelul 5

Material/Rezultat	Activitate anti-aderență (log UFC/mL)		Activitate microbicidă (log UFC/mL)	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Martor de creștere	-	-	2.133x10 <sup>8</sup>	6.66x10 <sup>9</sup>
<b>M3 netratat</b>	2	2	1.4x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>5</sup>
<b>M3 tratat cu solvent</b>	2	2	1.5x10 <sup>6</sup>	5.33x10 <sup>8</sup>
<b>M3 tratat cu S1</b>	2	2	4.33x10 <sup>5</sup>	7x10 <sup>6</sup>
<b>M3 tratat cu S2</b>	2	2	1.46x10 <sup>5</sup>	2

Pentru mortarul de ciment (**M3**) nu a putut fi apreciat gradul de îmbunătățire a activității anti-aderență după tratarea cu cele două suspensii, deoarece toate probele, inclusiv martorii, au inhibat aderența celulelor bacteriene atât al tulpinii Gram-pozitive cât și al tulpinii Gram-negative, blocând astfel posibilitatea dezvoltării unor eventuale biofilme.

S-a observat un efect microbicid semnificativ, cu reducerea logaritmică a valorilor UFC/ml de peste 4 unități doar în cazul probei tratate cu suspensia **S2** și doar pentru tulpina Gram-negativă *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Pierderea de rezistență a materialului după 25 de cicluri de îngheț/dezgeț este prezentată în tabelul 6. Materialele au fost tratate prin pulverizare o dată (probele cu superscript 1), respectiv de două ori, la un interval de 24 de ore (probele cu superscript 2) cu solventul utilizat (soluție alcool izopropilic), respectiv soluțiile **S1** și **S2**.

Tabelul 6

Material/Rezultat	Pierderea de rezistență, %
Martor netratat– <b>M3</b>	-
<b>M3 tratat cu solvent<sup>1</sup></b>	3,73
<b>M3 tratat cu S1<sup>1</sup></b>	3,22
<b>M3 tratat cu S2<sup>1</sup></b>	2,39
<b>M3 tratat cu solvent<sup>2</sup></b>	2,51
<b>M3 tratat cu S1<sup>2</sup></b>	1,96
<b>M3 tratat cu S2<sup>2</sup></b>	1,30

Pentru ambele variante de lucru se observă o tendință de reducere a pierderii de rezistență pentru materialul tratat, mai evidentă în cazul tratării cu **S2**.

## Revendicări

1. Suspensii antimicrobiene pulverizabile cu efect atât asupra tulpinilor gram-pozitive (exemplificat prin efectul asupra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) cât și asupra tulpinilor gram-negative (exemplificat prin efectul asupra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), **caracterizate prin aceea că** sunt constituite dintr-o substanță activă de tipul hidroxiapatitei,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , în care calciul a fost parțial dizlocuit cu argint într-un raport  $\text{Ag}/\text{Ca}=0,66$ , dispersată în soluție de alcool izopropilic (70%) în concentrații variabile 2 ... 5g/L.

2. Suspensie antimicrobiană pulverizabilă și cu efect anti-aderență pentru tratarea suprafețelor din ipsos de modelaj, cu efect asupra tulpinilor Gram-pozitive (exemplificat prin efectul asupra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) **caracterizată printr-o** compoziție a substanței active (structură de hidroxiapatită în care calciul este parțial dizlocuit cu argint, într-un raport  $\text{Ag}/\text{Ca}=0,66$ ) de 5 g/L dispersată în soluție alcool izopropilic 70%.

3. Suspensie antimicrobiană pulverizabilă pentru tratarea suprafețelor din mortar var, cu efect asupra tulpinilor Gram-pozitive (exemplificat prin efectul asupra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) și gram-negative (exemplificat prin efectul asupra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) **caracterizată printr-o** compoziție a substanței active (structură de hidroxiapatită în care calciul este parțial dizlocuit cu argint, într-un raport  $\text{Ag}/\text{Ca}=0,66$ ) de 2..5 g/L dispersată în soluție alcool izopropilic 70%.

4. Suspensie antimicrobiană pulverizabilă pentru tratarea suprafețelor din mortar ciment, cu efect asupra tulpinilor gram-negative (exemplificat prin efectul asupra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) **caracterizată printr-o** compoziție a substanței active (structură de hidroxiapatită în care calciul este parțial dizlocuit cu argint, într-un raport  $\text{Ag}/\text{Ca}=0,66$ ) de 5 g/L dispersată în soluție alcool izopropilic 70%.

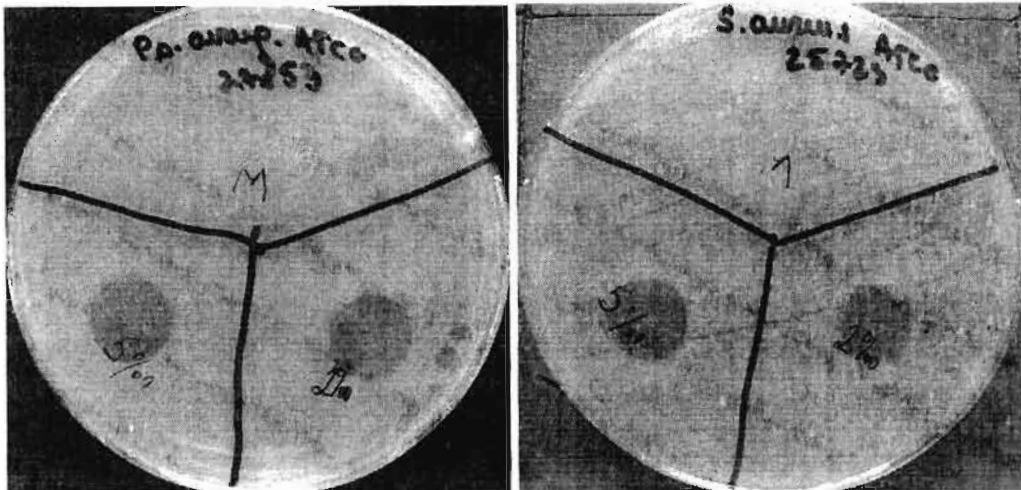


Figura 1. Aspectul zonelor de inhibiție a creșterii microbiene pentru suspensiile (S1 - 2‰, S2 - 5‰) testate față de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (A) și față de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (B); M - martor soluția de alcool izopropilic (70%).