



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00919**

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

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29/01/2021** BOPI nr. 1/2021

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

(73) Titular:
• **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,
ROȘIORI 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. BÂRNOVA
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**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
**KR 20170048262 (A); KR 20040101618 A;
RO 126570 B1**

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



RO 133306 B1

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

Materialele de construcții sunt expuse la poluanți de mediu (anorganici și organici),
5 factori climatici (temperatură, umiditate, ploaie și alte precipitații, expunerea la soare) și trata-
mente chimice (biocide, tensioactivi și compuși hidrofobi), la care se adaugă factorii de ordin
7 biologic, dacă luăm în considerare riscul dezvoltării și întreținerii unor infecții cu tulpini noso-
comiale în spațiile destinate îngrijirii și recuperării bolnavilor. Alterările fizice sau mecanice,
9 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 diferi-
11 telor specii microbiene) din structura clădirilor sau monumentelor. Condițiile create de ume-
zeală și nutrienți favorizează dezvoltarea microorganismelor. Microorganismele dezvoltate
13 pe suprafața sau chiar în profunzimea zidurilor de construcții sunt responsabile de deterio-
rarea structurii acestora, a decorațiilor și în plus afectează calitatea mediului din interior,
15 în final având efecte negative grave asupra sănătății umane (dezvoltarea unor afecțiuni
alergice, infecții respiratorii, infecții cutanate, boli autoimune).

17 Tratarea zidăriei clădirilor afectate cu ingrediente active precum pentaclorofenol
(PCP), tributinil oxid (TBTO), carboxilat de zinc sau boro-esteri a fost în ultimul timp restric-
19 ționată, 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
21 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
23 abordări în mai multe sectoare pentru a oferi soluții alternative.

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

Cererea de brevet **US 5698229 A** revendică folosirea unui compus anorganic pe care
29 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
31 următoarea formula: $Ag_a M^1_b M^2_c (PO_4)_3 x n H_2O$.

Se cunoaște din cererea de brevet **US 20020168473 A1** un material poros tratat
33 antimicrobian și un procedeu pentru impregnarea materialelor poroase cu polimeri
antimicrobieni utilizând medii supercritice.

35 Conform brevetului **EP 1786873 B1** se revendică un agent antimicrobian pe bază de
ortofenil fenol de sodiu, prezent într-o cantitate de la 1000 ppm la 3000 ppm, iar compoziția
37 tratată este stucco.

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

41 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în protejarea suprafețelor
anorganice ale clădirilor prin distrugerea microbilor și a bacteriilor prin utilizarea unor
43 compuși a căror sinteză este mai rapidă, economică și fără acțiune negativă asupra mediului
și sănătății umane.

45 Soluția propusă, conform invenției, înlătură dezavantajele menționate mai sus prin
aceea că utilizează o suspensie care este constituită din 2...5 g/l substanță activă de tip
47 hidroxiapatită $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, în care Ca a fost parțial dizlocuit cu Ag, în raport Ca/Ag de
0,66, dispersată în soluție de alcool izopropilic 70%, în concentrații variabile 2...5 g/L,
49 raportul Ag/Ca este 0,66 și are activitate antimicrobiană față de tulpini gram-negative
Pseudomonas aeruginosa și gram-pozitive *Staphylococcus aureus*.

RO 133306 B1

Pentru obținerea soluției pulverizabile, materialul solid (sub formă de pulbere) se mojarază până la obținerea unor particule cu dimensiuni sub 45 μm 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 min, 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 μm, 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 μm, urmate de dispersarea în soluție de alcool izopropilic (70%).

Se dau în continuare patru exemple de aplicare a invenției. 11

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. 13 15 17

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 x 10⁵ UFC/ml (Unități Formatoare de Colonii/ml). 19 21

Exemplul 1 23

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 x 10⁸ 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 μl suspensie **S1** și **S2**. Plăcile au fost lăsate 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 h. 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 fig. 1. 25 27 29 31 33

Testarea activității antimicrobiene a suspensiilor **S1** și **S2** a evidențiat un puternic efect microbiocid 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. 35 37 39

Exemplul 2

În tabelul 1 sunt prezentate rezultatele obținute în cazul tratării ipsosului de modelaj **M1**) cu soluțiile antimicrobiene **S1** și **S2**. 41

RO 133306 B1

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 x 10 ⁸	6,66 x 10 ⁹
M1 netratat	1,5 x 10 ⁶	1,03 x 10 ⁷	1,866 x 10 ⁹	2,166 x 10 ¹⁰
M1 tratat cu solvent	5 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	0,6 x 10 ⁹	6,66 x 10 ⁹
M1 tratat cu S1	2,6 x 10 ⁶	7,66 x 10 ⁶	1,033 x 10 ¹¹	1,266 x 10 ¹⁰
M1 tratat cu S2	2,6 x 10 ²	1,66 x 10 ⁵	7,33 x 10 ⁷	2,66 x 10 ⁸

Tratarea cu soluțiile pulverizabile nu a influențat semnificativ capacitatea de aderență 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, etapa de aderență a celulelor bacteriene la diferite suprafețe fiind prima etapă în procesul de generare a unui biofilm. 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/dezghet 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 h (probele cu superscript 2) cu solventul utilizat (soluție alcool izopropilic), respectiv soluțiile **S1** și **S2**.

Tabelul 2

Material/Rezultat	Pierderea de rezistență, %
Martor netratat- M1	-
M1 tratat cu solvent ¹	1212
M1 tratat cu S1 ¹	1081
M1 tratat cu S2 ¹	991
M1 tratat cu solvent ²	1057
M1 tratat cu S1 ²	688
M1 tratat cu S2 ²	549

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	-	-	$2,133 \times 10^8$	$6,66 \times 10^9$
M2 netratat	2	2	2	$6,6 \times 10^8$
M2 tratat cu solvent	2	2	2	$3,3 \times 10^3$
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 ai 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**.

Pierderea 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 h (probele cu superscript 2) cu solventul utilizat (soluție alcool izopropilic), respectiv soluțiile **S1** și **S2**.

Tabelul 4

Material/Rezultat	Pierderea de rezistență, %
Martor netratat- M2	-
M2 tratat cu solvent ¹	1746
M2 tratat cu S1 ¹	1349
M2 tratat cu S2 ¹	873
M2 tratat cu solvent ²	1323
M2 tratat cu S1 ²	979
M2 tratat cu S2 ²	608

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	-	-	$2,133 \times 10^8$	$6,66 \times 10^9$
M3 netratat	2	2	$1,4 \times 10^6$	1×10^5
M3 tratat cu solvent	2	2	$1,5 \times 10^6$	$5,33 \times 10^8$
M3 tratat cu S1	2	2	$4,33 \times 10^5$	7×10^6
M3 tratat cu S2	2	2	$1,46 \times 10^5$	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/dezghet 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 h (probele cu superscript 2) cu solventul utilizat (soluție alcool izopropilic), respectiv soluțiile **S1** și **S2**.

Tabelul 6

Material/Rezultat	Pierderea de rezistență, %
Martor netratat- M3	-
M3 tratat cu solvent ¹	373
M3 tratat cu S1 ¹	322
M3 tratat cu S2 ¹	239
M3 tratat cu solvent ²	251
M3 tratat cu S1 ²	196
M3 tratat cu S2 ²	130

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**.

RO 133306 B1

Revendicare

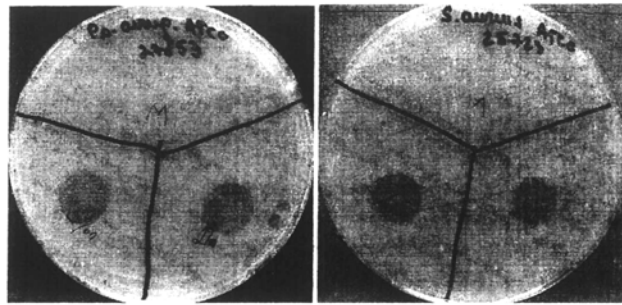
1

Suspensie pulverizabilă pentru consolidarea și protecția antimicrobiană a suprafețelor din ipsos de modelaj, mortar var și mortar ciment, **caracterizată prin aceea că**, este constituită din 2...5 g/L substanță activă de tip hidroxiapatită $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, în care Ca a fost parțial dizlocuit cu Ag, în raport Ca/Ag de 0,66, dispersată în soluție de alcool izopropilic 70%, în concentrații variabile 2...5 g/L și având activitate antimicrobiană față de tulpini gram-negative *Pseudomonas aeruginosa* și gram-pozitive *Staphylococcus aureus*.

(51) Int.Cl.

A01N 25/34 (2006.01),

A01N 59/26 (2006.01)



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 29/2021