

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
25. Januar 2007 (25.01.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/009606 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

A01N 31/08 (2006.01) A01N 31/02 (2006.01)
A01N 37/40 (2006.01) A01P 1/00 (2006.01)
A01N 31/14 (2006.01)

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER HEALTHCARE AG;
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/006599

(22) Internationales Anmeldedatum:
6. Juli 2006 (06.07.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102005033496.2 19. Juli 2005 (19.07.2005) DE

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,
KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368
Leverkusen (DE). LANXESS DEUTSCHLAND GMBH
[DE/DE]; 51369 Leverkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GREIF, Gisela
[DE/DE]; Marienhöhe 15, 53424 Remagen (DE). FROY-
MAN, Robrecht [BE/DE]; Heerweg 112, 40789 Mon-
heim (DE). ORTIZ, Claudio [CL/DE]; Bregenzer Str.
28, 40789 Monheim (DE). RENNER, Gerd-Friedrich
[DE/DE]; Am Lingenstock 41, 51515 Kürten (DE).
EXNER, Otto [DE/DE]; Zieglerstr. 51, 40878 Ratingen
(DE). SCHLEGEL, Dietmar [DE/DE]; Birkenbergstr.
44, 51379 Leverkusen (DE). MATYSIAK, Rolf [DE/DE];
Bremweg 93, 47239 Duisburg (DE).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: DISINFECTING AGENT

(54) Bezeichnung: DESINFektionsMITTEL

(57) Abstract: The invention relates to a disinfecting agent which contains a specific combination of biocidal phenols and, optionally, phenol derivatives in addition to a keratolytic. The disinfecting agent can be used, in particular, for combating parasitic protozoas, including the durable forms thereof.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Desinfektionsmittel enthaltend eine spezielle Kombination biozider Phenole und gegebenenfalls Phenolderivate sowie ein Keratolytikum. Das Desinfektionsmittel eignet sich insbesondere zur Bekämpfung von parasitären Protozoen einschließlich deren Dauerformen.

WO 2007/009606 A2

Desinfektionsmittel

Die Erfindung betrifft ein Desinfektionsmittel enthaltend eine spezielle Kombination biozider Phenole und gegebenenfalls Phenolderivate sowie ein Keratolytikum. Das Desinfektionsmittel eignet sich insbesondere zur Bekämpfung von parasitären Protozoen einschließlich deren Dauer-

5 formen.

Solche Desinfektionsmittel haben z.B. besondere Bedeutung in der Bekämpfung von Kokzidiosen bei Nutztieren. *Eimeria tenella* ist der Protozoen-Erreger der Geflügelkokzidiose, einer Erkrankung, die mit der intensiven Bodenhaltung von Küken und Hühnern zu einem ökonomisch bedeutsamen Problem wurde. Die Infektion der Tiere beginnt nach der Aufnahme von sporulierten Oo-

10 cysten, die Träger der infektiösen einzelligen Sporozoiten sind. Die Sporozoiten besiedeln Darmzellen in deren Schutz die millionenfache Vermehrung der Parasitenstadien erfolgt. Zur Pathologie einer Kokzidiose-Erkrankung gehören blutige Durchfälle, die durch eine verminderte Nahrungsaufnahme und einen Gewichtsverlust der Hühner große wirtschaftliche Schäden verursachen kann.

Zur Prophylaxe dieser Erkrankung werden derzeit Antikokzidia im Wert von jährlich mindestens

15 350 Mio. US-Dollar aufgewendet. Die chemotherapeutische Behandlung wird seit 1970 vor allem mit den Polyether-Ionophoren Monensin, Narasin, Salinomycin und Lasalocid durchgeführt. Neben der schwerwiegenden Medikamentenbelastung des Huhns gilt die Entstehung von Medikamenten-Resistenzen als größtes Problem der chemotherapeutischen Behandlung. Erstes Anzeichen einer Resistenzentwicklung ist oft das erneute Ansteigen der Oocystenausscheidung.

Eine Alternative zur chemotherapeutischen Behandlung der Kokzidiose wäre die frühe Desinfektion der Geflügelstallungen. Hier werden *Eimeria*-Dauerstadien, die sogenannten Oocysten, mit dem Kot der Tiere abgesetzt und können zusammen mit Kotresten und Futterbestandteilen an Bodenbelägen, Wandflächen, in Mauerritzen und an Haltungseinrichtungen persistieren und als ständige Infektionsquelle Neuerkrankungen bei eingesetzten Tieren über einen langen Zeitraum auslösen.

20

25 *Eimeria* Oocysten können noch bis zu einem Jahr nach der Ausscheidung infektiös sein. In diesem Zeitraum ist die Verschleppung von Oocysten durch Personen oder Tiere in benachbarte Geflügelstallungen eine zusätzliche Belastung.

Eimeria tenella Oocysten haben eine Größe von 24.5-18.3 µm und werden im Anschluss an die ungeschlechtlichen Vermehrungszyklen in Darmzellen infizierter Tiere millionenfach gebildet. Ein weiblicher Macrogamont wird durch einen männlichen Microgameten befruchtet und formt die Zygote, die sich mit zwei typischen Schichten umgibt: einer glatten äußeren Schicht, die nach Fusion der Hüllbildungskörper WFI („wall forming body I) entsteht und einer inneren Schicht, die nach Fusion der Hüllbildungskörper WFII („wall forming body II) entsteht. Bis zur Fertigstellung

30

beider Schichten verbleibt die reifende Oocyste in der parasitophoren Vakuole infizierter Darmzellen und wird erst danach mit dem Kot ausgeschieden. In Gegenwart von Sauerstoff beginnt die sogenannte Sporulation: aus dem undifferenzierten Sporonten entstehen über eine Reduktionsteilung vier Sporocysten, die je zwei Sporozoiten enthalten. Die Sporulation dauert für *Eimeria tenella* in der Regel 2-3 Tage. Erst nach ihrem Abschluss ist die Oocyste infektiös.

Bau und Zusammensetzung beider Oocystenwände sind von einer ausgeprägten biochemisch-physiologischen Widerstandsfähigkeit und stellen eine effektive Schutzbarriere für das Überleben der Parasitenkeime im Freien dar. Während die äußere Oocystenwand aus Phospholipiden, langkettigen Alkoholen und Triglyceriden aufgebaut wird, besteht die innere Schicht aus Glykoproteinen, welche durch Disulfidbrücken stabilisiert werden. Das Haupt-Oocysten-Wand-Protein von 12-14 kDa enthält Serin, Tyrosin und Threonin Aminosäuren und ist an Kohlenhydrate gebunden. Diese Proteine verleihen der Oocyste eine große strukturelle Stabilität gegen Hitze oder Kälte. Die Lipide der äußeren Schicht bedingen die hohe Chemikalien-Resistenz.

Einfache physikalische Desinfektionsmaßnahmen über Hitze, Kälte, Trocknung oder Bestrahlung sind nur sehr begrenzt einsetzbar: So werden Oocysten im Labor bei Temperaturen von 60-100°C in wenigen Minuten abgetötet, doch ist die Desinfektionswirkung von heißem Wasser unter Praxisbedingungen im Stall meist gering, da das Wasser auf dem Stallboden zu rasch abkühlt. Auch bei Hochdruckreinigungen wird bei geringen Einwirkzeiten nur eine partielle Desinfektion erreicht. Auch gegenüber Kälte weisen die Oocysten eine beachtliche Widerstandskraft auf. Selbst bei Tiefgefrierung von -25°C über 14 Tage überleben *Eimeria* Oocysten und bleiben infektiös. Trocknung erzielt einen gewissen Grad an Schädigung, doch zeigte sich das Verfahren zur Desinfektion als wenig verlässlich.

Gamma- und Elektronenstrahlen führen ab 3,5-4,0 kGy zum Verlust der Sporulationsfähigkeit von Oocysten, doch ist ihr Einsatz wegen der hohen Anschaffungskosten der erforderlichen Geräte für den Landwirt nicht praktikabel.

Die meisten gegen Bakterien und Viren wirksamen chemischen Desinfektionsmittel sind gegen *Eimeria* Oocysten unwirksam weil deren Hüllen chemisch komplexer aufgebaut sind und das Eindringen von Chemikalien erschweren. Ein parasitenspezifisches Desinfektionsmittel muss zunächst die lipidhaltigen äußeren Hüllen der Oocyste durchdringen und danach die stabilen Glykoproteine der inneren Hüllen angreifen bevor es membranhaltige Sporocysten und Sporozoiten schädigen kann.

Gegenüber aggressiven anorganischen Substanzen wie Natronlauge (NaOH) oder Natriumhypochlorit (NaOCl) sind *Eimeria* Oocysten 1000fach widerstandsfähiger als Bakterien. Selbst bei Kon-

zentrationen >5% und einer Einwirkzeit von 120 min geht die Infektiosität der Oocysten nicht verloren. In osteuropäischen Ländern wird gelegentlich Ammoniak (NH₃) bei einer Einwirkzeit von 24 Stunden erfolgreich eingesetzt, doch ist gleichzeitig die Geruchsbelästigung einer Ammoniak-gesättigten Atmosphäre sehr hoch.

- 5 Ethanol (70-90%) und Formaldehyd haben keine für die Praxis ausreichende Wirkung auf die widerstandsfähigen Oocysten von *Eimeria* Arten.

Einzig Derivate des Phenols, insbesondere das p-Chlor-m-Kresol, sind als alleinige organische Wirkstoffe in einigen Handelspräparaten enthalten (Tabelle 1), daneben auch in Kombination mit Schwefelkohlenstoff und Chloroform (Tabelle 1). Sie werden in der Praxis zur Bekämpfung der

- 10 Kokzidiose des Geflügels in leeren Stallungen eingesetzt.

Tabelle 1: Zugelassene Desinfektionsmittel mit Wirksamkeit gegen *Eimeria* Oocysten

(Böhm 2000)

<i>Handelsname</i>	<i>Wirkstoffe</i>	<i>Anwendung (% , h)</i>
Calgonit sterizid P24	Kresole	4%, 2h
Dessau DES SPEZIAL N	Kresole	4%, 2h
ENDOSANFORTE S Neu	Kresole	4%, 2h
JEME®-OKOK 5	Phenolverbindungen Schwefelkohlenstoff Chloroform	5%, 2h
<u>LOMASEPT® L 20</u>	Phenolverbindungen Schwefelkohlenstoff Chloroform	5%, 2h
NEOPREDISAN 135-1	Kresole	4%, 2h
NOACK-DES ENDO	Kresole	4%, 2h

- 15 WO 94/17661 beschreibt ein Desinfektionsmittel mit parasitizider Wirksamkeit, das ein oder mehrere Phenole in Kombination mit keratolytisch wirksamen organischen Säuren, Ethylenglykoldialkylether sowie Natrium- oder Kalium-Alkylsulfonate oder -sulfate enthält.

Antiparasitäre Desinfektionsmittel werden in Deutschland nach den Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) an Oocysten von *Eimeria tenella* im Suspensionsver-

such (Lysistest) sowie im Infektionstest an Hühnerküken auf Wirksamkeit geprüft. *Eimeria tenella* Oocysten, Stamm „Houghton“, werden als besonders widerstandsfähig eingestuft und daher als Testorganismen empfohlen.

5 In der Praxis ist vor allem die Bekämpfung von Oocysten der Eimeria Arten ein Problem. Allerdings ist der Aufbau der Cystenwand bei anderen Protozoen, insbesondere Kokzidien, und auch bei Würmern ähnlich. Die vorstehende Darstellung am Beispiel von Eimeria Arten lässt sich daher auf diese Organismen übertragen.

Bei der Anwendung dieser Testsysteme haben wir nun überraschend gefunden, dass Mittel enthal-
tend eine Kombination verschiedener biozider Phenole bzw. Phenolderivate bei gleichzeitiger An-
10 wendung von Keratolytika die desinfizierende Wirksamkeit bestehender Desinfektionsmittel deut-
lich übersteigt.

Die Erfindung betrifft daher:

Desinfektionsmittel enthaltend

- (a) ein chloriertes biozides Phenol
- 15 (b) ein weiteres chloriertes oder nicht chloriertes biozides Phenol
- (c) ein weiteres nicht chloriertes biozides Phenol und/oder ein Phenolderivat.
- (d) ein Keratolytikum

Unter bioziden Phenolen werden solche Phenolverbindungen verstanden die eine freie OH-Gruppe
tragen und eine biozide Wirkung aufweisen. Diese Phenole können weitere Ringsubstituenten tra-
gen, wie z.B. Halogene, insbesondere Chlor, C₁₋₆-Alkyl, C₃₋₆-Cycloalkyl, Phenyl, Chlorphenyl,
20 Benzyl und/oder Chlorbenzyl.

Nicht chlorierte biozide Phenole sind z.B.: 2-Methylphenol, 3-Methylphenol, 4-Methylphenol, 4-
Ethylphenol, 2,4-Dimethylphenol, 2,5-Dimethylphenol, 3,4-Dimethylphenol, 2,6-Dimethylphenol,
4-n-Propylphenol, 4-n-Butylphenol, 4-n-Amylphenol, 4-n-Hexylphenol, Thymol (5-Methyl-2-
25 Isopropylphenol), 2-Phenylphenol, 4-Phenylphenol, 2-Benzylphenol. Bevorzugt als nicht chlorier-
tes biozides Phenol eingesetzt wird 2-Phenylphenol.

Chlorierte biozide Phenole sind z.B. 4-Chlor-3-methylphenol (PCMC, p-Chlor-m-kresol), 4-Chlor-
3-ethylphenol, 2-n-Amyl-4-chlorphenol, 2-n-Hexyl-4-chlorphenol, 2-Cyclohexyl-4-chlorphenol, 4-
Chlor-3,5-xylenol (PCMX, p-Chlor-m-xylenol), 2,4-Dichlor-3,5-xylenol (DCMX, Dichlor-p-

xilenol), 4-Chlor-2-phenylphenol, 2-Benzyl-4-chlorphenol, Benzyl-4-chlor-m-kresol, 4-Chlorbenzyl-dichlor-m-kresol. Bevorzugte chlorierte biozide Phenole sind 2-Benzyl-4-chlorphenol, 4-Chlor-3,5-xilenol, 2,4-Dichlor-3,5-xilenol sowie insbesondere 4-Chlor-3-methylphenol.

- Unter Phenolderivaten werden hier solche vom Phenol abgeleitete Verbindungen verstanden, deren OH-Gruppe derivatisiert ist, sodass sie keine freie OH-Gruppe enthalten. Bevorzugt sind dies Phenolether, insbesondere mit aliphatischen Alkoholen mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen. Als bevorzugtes Beispiel sei Phenoxyethanol genannt.

- Gemäß einer erfindungsgemäßen Ausführungsform können als biozide Wirkstoffe ein nicht chloriertes Phenol mit zwei chlorierten Phenolen kombiniert werden. Ein bevorzugtes Beispiel ist die Kombination von 4-Chlor-3-methylphenol, 2-Phenylphenol und 2-Benzyl-4-chlorphenol.

Es hat sich jedoch gezeigt, dass gerade die Verwendung von nicht chlorierten Phenolderivaten, insbesondere Phenoxyethanol, zusammen mit bioziden Phenolen in der Regel nochmal zu einer Wirkungsverbesserung führt.

- Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform können als biozide Wirkstoffe ein chloriertes Phenol, ein nicht chloriertes Phenol und ein nicht chloriertes Phenolderivat, insbesondere Phenoxyethanol, eingesetzt werden.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform können als biozide Wirkstoffe zwei unterschiedliche chlorierte Phenole und ein nicht chloriertes Phenolderivat, insbesondere Phenoxyethanol, eingesetzt werden.

- Besonders bevorzugt werden als biozide Wirkstoffe zwei unterschiedliche chlorierte Phenole, ein nicht chloriertes Phenol und ein nicht chloriertes Phenolderivat, insbesondere Phenoxyethanol, eingesetzt. Ein insbesondere bevorzugtes Beispiel ist die Kombination von 4-Chlor-3-methylphenol, 2-Phenylphenol, 2-Benzyl-4-chlorphenol und Phenoxyethanol.

- Keratolytika sind Stoffe, die Keratine beeinflussen und im Extremfall denaturieren oder zersetzen können. Für die erfindungsgemäßen Mittel kommen als Keratolytika in Frage: Organische Säuren, wie Citronensäure, Ameisensäure und Salicylsäure; weiterhin Harnstoff, Resorcin, Thioglykolsäure, Sulfide, Harnstoff, 5-Fluorouracil. Erfindungsgemäß ist Salicylsäure bevorzugt.

- Die phenolischen Wirkstoffe und das Keratolytikum können in verschiedener Weise zu einem Desinfektionsmittel formuliert werden, wobei feste oder flüssige Formulierungen in Frage kommen.

Feste Formulierungen können z.B. in Form von Pulvern, Stäuben, Granulaten etc. eingesetzt werden. Diese enthalten üblicherweise Träger- und/oder Hilfsstoffe. Die Wirkstoffe können mit den Träger- und/oder Hilfsstoffen vermischt oder auf diese aufgezogen werden.

5 Bevorzugt sind jedoch flüssige Formulierungen z.B. in Form von Emulsionen, Suspensionen oder insbesondere Lösungen. Flüssige Formulierungen können direkt angewendet werden, bevorzugt handelt es sich um Konzentrate, die vor der Anwendung in der Regel mit Wasser auf die geeignete Konzentration verdünnt werden.

10 Emulsionen sind entweder vom Typ Wasser in Öl oder vom Typ Öl in Wasser. Sie werden hergestellt, indem man die Wirkstoffe entweder in der hydrophoben oder in der hydrophilen Phase löst und diese unter Zuhilfenahme geeigneter Emulgatoren und gegebenenfalls weiterer Hilfsstoffe wie Farbstoffe, Konservierungsstoffe, Antioxidantien, Lichtschutzmittel, viskositätserhöhende Stoffe, mit dem Lösungsmittel der anderen Phase homogenisiert.

15 Als hydrophobe Phase (Öle) seien genannt: Paraffinöle, Silikonöle, natürliche Pflanzenöle wie Sesamöl, Mandelöl, Rizinusöl, synthetische Triglyceride wie Capryl/Caprinsäure-biglycerid, Triglyceridgemisch mit Pflanzenfettsäuren der Kettenlänge C₈₋₁₂ oder anderen speziell ausgewählten natürlichen Fettsäuren, Partialglyceridgemische gesättigter oder ungesättigter, eventuell auch hydroxylgruppenhaltiger Fettsäuren, Mono- und Diglyceride der C₈/C₁₀-Fettsäuren. Fettsäureester wie Ethylstearat, Di-n-butyryl-adipat, Laurinsäurehexylester, Dipropylenglykolphelargonat, Ester einer verzweigten Fettsäure mittlerer Kettenlänge mit gesättigten Fettalkoholen der Kettenlänge 20 C₁₆-C₁₈, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Capryl/Caprinsäureester von gesättigten Fettalkoholen der Kettenlänge C₁₂-C₁₈, Isopropylstearat, Ölsäureoleylester, Ölsäuredecylester, Ethyloleat, Milchsäureethylester, wachsartige Fettsäureester wie Dibutylphthalat, Adipinsäurediisopropylester, letzterem verwandte Estergemische u.a. Fettalkohole wie Isotridecylalkohol, 2-Octyldodecanol, Cetylstearylalkohol, Oleylalkohol; Fettsäuren wie z.B. Ölsäure und ihre Gemische.

25 Als hydrophile Phase seien genannt: Wasser, Alkohole wie z.B. Propylenglycol, Glycerin, Sorbitol, Ethanol, 1-Propanol, 2-Propanol, n-Butanol sowie Gemische dieser Lösungsmittel.

Als Emulgatoren seien genannt:

nichtionogene Tenside, z.B. polyoxyethyliertes Rizinusöl, polyoxyethyliertes Sorbitan-monooleat, Sorbitanmonostearat, Glycerinmonostearat, Polyoxyethylstearat, Alkylphenolpolyglykolether;

30 ampholytische Tenside wie Di-Na-N-lauryl-β-iminodipropionat oder Lecithin;

anionaktive Tenside, wie Fettalkoholethersulfate, C₈₋₁₈-Alkylsulfonate oder -sulfate wie Na-Laurylsulfat oder sekundäre Alkylsulfonate (Mersolate®, vorzugsweise mit einer mittleren Alkylkettenlänge von 15 Kohlenstoffatomen), Mono/Dialkylpolyglykoetherorthosphorsäureester-monoethanolaminsalz;

- 5 kationaktive Tenside wie Cetyltrimethylammoniumchlorid.

Als weitere Hilfsstoffe seien genannt: Viskositätserhöhende und die Emulsion stabilisierende Stoffe wie Carboxymethylcellulose, Methylcellulose und andere Cellulose- und Stärke-Derivate, Polyacrylate, Alginate, Polyvinylpyrrolidon, Polyvinylalkohol, Copolymere aus Methylvinylether und Maleinsäureanhydrid, Polyethylenglykole, Wachse, kolloidale Kieselsäure oder Gemische der
10 aufgeführten Stoffe.

Suspensionen werden hergestellt, indem man den Wirkstoff in einer Trägerflüssigkeit gegebenenfalls unter Zusatz weiterer Hilfsstoffe wie Netzmittel, Farbstoffe, Konservierungsstoffe, Antioxidantien, Lichtschutzmittel suspendiert.

Als Trägerflüssigkeiten kommen alle hier genannten Lösungsmittel und homogenen Lösungsmittelgemische in Frage.
15

Als Netzmittel (Dispergiermittel) seien die weiter oben angegebenen Tenside genannt.

Lösungen werden hergestellt, indem der Wirkstoff in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst wird und eventuell Zusätze wie Tenside, Lösungsvermittler, Säuren, Basen, Puffersalze, Antioxidantien, Konservierungsmittel zugefügt werden.

20 Als Lösungsmittel seien genannt: Wasser, Alkohole wie Alkanole mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen (z.B. Ethanol, 1-Propanol, 2-Propanol, n-Butanol), aromatisch substituierte Alkohole wie Benzylalkohol, Phenylethanol; Glycerin, Glykole, Propylenglykol, Polyethylenglykole, Polypropylenglykole, Ester wie Essigsäureethylester, Butylacetat, Benzylbenzoat; Ether wie Alkylenglykolalkylether wie Dipropylenglykolmonomethylether, Diethylenglykolmono-butylether; Ketone wie Aceton, Methylethylketon, aromatische und/oder aliphatische Kohlenwasserstoffe, pflanzliche oder
25 synthetische Öle, Dimethylformamid (DMF), Dimethylacetamid, N-Methylpyrrolidon, 2-Dimethyl-4-oxy-methylen-1,3-dioxolan sowie Gemische derselben.

Tenside zum Einsatz in den Lösungen können die oben bei den Emulsionen aufgeführten Tenside sein, bevorzugt sind es anionische Tenside, insbesondere C₈₋₁₈-Alkylsulfonate oder -sulfate, z.B. sekundäre Alkylsulfonate (Mersolate®), vorzugsweise mit einer mittleren Alkylkettenlänge von
30 15 Kohlenstoffatomen.

Als Lösungsvermittler seien genannt: Lösungsmittel, die die Lösung des Wirkstoffs im Hauptlösungsmittel fördern oder sein Ausfallen verhindern. Beispiele sind Polyvinylpyrrolidon, polyoxyethyliertes Rhizinusöl, polyoxyethylierte Sorbitanester.

5 Als weitere Hilfs- oder Zusatzstoffe können die erfindungsgemäßen Desinfektionsmittel noch Enthärter und/oder Korrosionsinhibitoren enthalten.

Als Enthärter kommen an sich beispielsweise aus der Wasserbehandlung bekannte Zusätze in Frage, z.B. Phosphonsäuren, kettenförmige Polyphosphate oder niedermolekular Polycarbonsäuren.

In den Fällen, in denen die erfindungsgemäßen Desinfektionsmittel für die Anwendung noch verdünnt werden sollten, liegen die Inhaltsstoffe üblicherweise in den folgenden Konzentrationen vor:

10 Die bioziden Phenole und ggf. Phenolderivate sind normalerweise in einer Gesamtkonzentration von 10 bis 90 Gew.-%, bevorzugt 10 bis 50 Gew.-%, besonders bevorzugt 15 bis 40 Gew.-% bezogen auf das Desinfektionsmittel enthalten.

Vorzugsweise liegt das Verhältnis von chlorierten bioziden Phenolen zu nicht chlorierten bioziden Phenolen bzw. Phenolderivaten im Bereich von 40:60 bis 90:10, bevorzugt 50:50 bis 85:15, besonders bevorzugt 65:35 bis 82:18 (Gewichtsverhältnisse bezogen auf das Gesamtgewicht der enthaltenen bioziden Phenole bzw. Phenolderivate, im Folgenden zusammenfassend als phenolische Biozide bezeichnet). Beispielfhaft seien hier für bevorzugte phenolische Biozide bevorzugte Konzentrationsbereiche angegeben (angegeben sind jeweils Gewichtsprozent bezogen auf das Gesamtgewicht aller im betreffenden Mittel enthaltenen phenolischen Biozide):

20 4-Chlor-3-methylphenol: 30 bis 80, bevorzugt 40 bis 70, besonders bevorzugt 45 bis 60 %.

2-Benzyl-4-chlorphenol: 5 bis 50, bevorzugt 10 bis 40, besonders bevorzugt 15 bis 30 %.

2-Phenylphenol: 5 bis 60, bevorzugt 10 bis 50, besonders bevorzugt 13 bis 45 %.

Phenoxyethanol: 3 bis 30, bevorzugt 5 bis 25, besonders bevorzugt 10 bis 20 %.

25 Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform enthält das erfindungsgemäße Desinfektionsmittel als biozide Phenole eine Kombination von 4-Chlor-3-methylphenol, 2-Benzyl-4-chlorphenol und 2-Phenylphenol, die gegebenenfalls und insbesondere bevorzugt noch Phenoxyethanol enthalten kann. Die Wirkstoffkonzentrationen liegen dann in den vorstehend genannten Bereichen.

Das Keratolytikum wird im Allgemeinen in den erfindungsgemäßen Desinfektionsmitteln in einem Gewichtsverhältnis zu den phenolischen Bioziden von 50:50 bis 10:90, bevorzugt 40:60 bis

15:85, besonders bevorzugt 30:70 bis 20:80 eingesetzt. Bezogen auf das fertige Desinfektionsmittel (üblicherweise Konzentrat) liegen die Konzentrationen an Keratolytikum in der Regel bei 1 bis 30 Gew.-%, bevorzugt 3 bis 20 Gew.-%, besonders bevorzugt 5 bis 18 Gew.-%.

Die erfindungsgemäßen Desinfektionsmittel enthalten vorzugsweise Tenside, und zwar üblicherweise in Konzentrationen von 3 bis 20 Gew.-%, bevorzugt 5 bis 20 Gew.-%, besonders bevorzugt 5 bis 15 Gew.-%.

Der Lösungsmittelanteil kann in weiten Grenzen variiert werden. Bei Konzentraten werden die nicht wässrigen Lösungsmittel, bevorzugt die weiter oben angegebenen Alkanole mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen (z.B. Ethanol, 1-Propanol, 2-Propanol, n-Butanol) üblicherweise in Mengen von 15 bis 65 Gew.-%, bevorzugt 20 bis 60 Gew.-%, besonders bevorzugt 30 bis 50 Gew.-% eingesetzt. Weiterhin enthalten die Mittel vorzugsweise Wasser, und zwar üblicherweise 0 bis 30 Gew.-%, bevorzugt 5 bis 25 Gew.-%, besonders bevorzugt 5 bis 20 Gew.-%.

Die vorstehend näher beschriebenen Desinfektionsmittel sind Konzentrate, die zur Anwendung in der Regel mit Wasser verdünnt werden. Anwendungsfertige Lösungen enthalten üblicherweise 0,5 bis 20 Vol.-%, bevorzugt 1 bis 10 Vol.-%, besonders bevorzugt 1 bis 5 Vol.-% Desinfektionsmittelkonzentrat. Die eingesetzte Konzentration kann je nach Anwendungszweck variiert werden. Beispielsweise sind bei höher konzentrierten Mitteln die für eine zufrieden stellende Wirkung erforderlichen Einwirkzeiten kürzer.

Typische Einwirkzeiten liegen beispielsweise bei 0,5 bis 5 Stunden, bevorzugt 1 bis 4 Stunden.

Die erfindungsgemäßen Desinfektionsmittel eignen sich zur Bekämpfung von parasitischen Protozoen und Helminthen, die in der Tierhaltung und Tierzucht bei Nutz-, Zucht-, Zoo-, Labor-, Versuchs- und Hobbytieren vorkommen. Sie sind dabei vor allem gegen die Dauerstadien (extrazelluläre Cystenstadien) wirksam.

Zu den parasitischen Protozoen zählen:

25 Sarcomastigophora (Rhizopoda) wie Entamoebidae z.B. *Entamoeba histolytica*, Hartmanellidae z.B. *Acanthamoeba* sp., *Hartmanella* sp.

Apicomplexa (Sporozoa), insbesondere Kokzidien, wie Eimeridae z.B. *Eimeria acervulina*, *E. adenoides*, *E. alabamensis*, *E. anatis*, *E. anseris*, *E. arloingi*, *E. ashata*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. brunetti*, *E. canis*, *E. chinchillae*, *E. clupearum*, *E. columbae*, *E. contorta*, *E. crandallii*, *E. deblickei*, *E. dispersa*, *E. ellipsoidalis*, *E. falciformis*, *E. faurei*, *E. flavescens*, *E. gallopavonis*, *E. hagani*, *E. intestinalis*, *E. iroquoiana*, *E. irrsidua*, *E. labbeana*, *E. leucarti*, *E. magna*, *E. maxima*, *E. media*,

E. meleagridis, *E. meleagritidis*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. ninakohlyakimovae*, *E. ovis*, *E. parva*, *E. pavonis*, *E. perforans*, *E. phasani*, *E. piriformis*, *E. praecox*, *E. residua*, *E. scabra*, *E. spec.*, *E. stiedai*, *E. suis*, *E. tenella*, *E. truncata*, *E. truttae*, *E. zuernii*, *Globidium spec.*, *Isospora belli*, *I. canis*, *I. felis*, *I. ohioensis*, *I. rivolta*, *I. spec.*, *I. suis*, *Neospora caninum*, *Cystispora spec.*, *Cryptosporidium spec.* wie *Toxoplasma* z.B. *Toxoplasma gondii*, wie *Sarcocystidae* z.B. *Sarcocystis bovis*, *S. bovihominis*, *S. ovicanis*, *S. ovifelis*, *S. spec.* und *S. suihominis*.

Mastigophora (Flagellata) wie z.B. Giardia lamblia, G. canis.

Ferner Myxospora und Microspora z.B. Glugea spec. Nosema spec.

Zu den Helminthen zählen Trematoden, Bandwürmer und Nematoden.

- 10 Zu den Trematoden gehören z.B. Erreger der Familien/Gattungen: Fasciola, Paramphistomum, Dicrocoelium, Opisthorchis;

zu den Bandwürmern gehören z.B. Erreger der Familien/Gattungen *Moniezia*, *Anoplocephala*, *Diphyllobothrium*, *Taenia*, *Echinococcus*, *Dipylidium*, *Raillietina*, *Choanotaenia*, *Echinuria*,

- zu den Nematoden gehören z.B. Erreger der Familien/Gattungen: Strongyloides, Haemonchus, Ostertagia, Trichostrongylus, Cooperia, Nematodirus, Trichuris, Oesophagostomum, Chabertia, Bunostomum, Toxocara vitulorum, Ascaris, Parascaris, Oxyuris, Oesophagostomum, Globocephalus, Hyostrongylus, Spirocerca, Toxascaris, Toxocara, Ancylostoma, Uncinaria, Capillaria, Prosthogonimus, Amidostomum, Capillaria, Ascaridia, Heterakis, Syngamus, Acanthocephalen.

Abgesehen von dem Einsatz gegen Protozoen und Helminthen können die erfindungsgemäßen

- 20 Desinfektionsmittel beispielsweise auch zur Bekämpfung von

Bakterien wie z.B. Clostridien, Escherichia coli, Salmonella spec. Pseudomonas spec. Staphylococcus spec., Mycobacterium tuberculosis und von

Hefen wie z.B. *Candida albicans* und Pilzinfektionen

eingesetzt werden.

- 25 Weiterhin können die erfindungsgemäßen Desinfektionsmittel auch zur Bekämpfung von Viren, wie z.B. Inflenzaviren, eingesetzt werden. Bekannt sind Inflenzaviren vom Typ A und Typ B. So sind beispielsweise für Vögel aviäre Inflenzaviren von besonderer Bedeutung, die zum Typ A gehören. Als Beispiel seien aviäre Inflenzaviren vom Subtyp H5N1 genannt.

Zu den Nutz- und Zuchttieren gehören Säugetiere wie z.B. Rinder, Pferde, Schafe, Schweine, Ziegen, Kamele, Wasserbüffel, Esel, Maultiere, Zebras, Kaninchen, Damwild, Rentiere, Pelztier wie z.B. Nerze, Chinchilla, Waschbär, Vögel wie z.B. Hühner, Gänse, Puten, Enten, Tauben, Fasane sowie Vogelarten für Heim- und Zoonhaltung.

- 5 Zu Labor- und Versuchstieren gehören Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Goldhamster, Hunde und Katzen.

Zu den Hobbytieren gehören Hunde und Katzen.

- Die erfindungsgemäßen Desinfektionsmittel eignen sich vor allem für den Einsatz in der Massentierhaltung, insbesondere zum Beispiel in der Geflügelzucht (beispielsweise in der Hühnerhaltung), der Kälber- oder Schweinehaltung.
- 10

Beispiele**I. Formulierungsbeispiele****Allgemeine Herstellungsvorschrift**

- Die Phenole werden in dem Alkohol bzw. Alkoholgemisch unter Rühren gelöst. Zu der erhaltenen
- 5 alkoholischen Lösung werden Wasser, ggf. Phenoxyethanol, Salicylsäure und Alkansulfonat (Mersolat® W93) gegeben und unter ständigem Rühren gelöst.

<i>Formulierung</i> <i>Bestandteile</i>	<i>Beispiel Nr.</i>						
	1	2	3	4	5	6	7
	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]	[g]
1-Propanol	25	25	25	25	25	25	25
2-Propanol	15	15	15	15	15	15	15
4-Chlor-3-methylphenol	15	15	15	15	15	15	15
2-Phenylphenol	10	5	5	5	5	5	10
2-Benzyl-4-Chlorphenol		5	5	5	5	5	
Sek. Alkylsulfonat, mittlere Kettenlänge: C ₁₅ (Mersolat® W93)	10	10	10	10	15	10	10
Salicylsäure	10	10	10	15	10	10	10
Phenoxyethanol	5					5	5
Wasser	ad	ad	ad	ad	ad	ad	ad
	100	100	100	100	100	100	100

Material und Methoden für die biologischen Testverfahren

- 10 Die Prüfung der Desinfektions-Formulierungen orientierte sich an den Richtlinien für die Prüfung Chemischer Desinfektionsmittel der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft sowie an den publizierten Methoden Dauschies et al. (2002).

1. Gewinnung der Oocysten

- Für die Testung wurde der "Houghton"-Stamm von *Eimeria tenella* (Institute for Animal Health,
- 15 Compton Laboratories, Near Newbury, Berks. RG16 ONN, UK) verwendet. Für die Vermehrung und Gewinnung der Oocysten wurden 14 Tage alte männliche Legetypküken (Stamm LSL) der Fa.

Brinkschulte verwendet. Die Tiere wurden als Eintagesküken ins Tierzentrum angeliefert und kokzidienfrei mit Kükenaufzuchtfutter ohne Kokzidiostatika und Wasser ad libitum bis zum Versuchsbeginn im Tierzentrum gehalten. Für die Infektion wurden die Tiere mit 13.000 Oocysten per Schlundsonde individuell in 0,2 ml Wasser inokuliert. Am 7. Tag nach der Infektion wurden die Tiere mit Kohlendioxid schmerzlos abgetötet, die Oocysten aus den Blinddärmen isoliert und in 2% Kaliumdichromatlösung 4 Tage zur Sporulation aufgestellt. Am Versuchstag wurde das Kaliumdichromat aus der Oocystensuspension durch Zentrifugation gewaschen, 3-mal jeweils 5 min bei 2000 Upm und Resuspension des pellets in Wasser. Nach der 3. Zentrifugation wurde die Oocystensuspension mittels Bürker-Kammer auf eine Konzentration von 25.000 Oocysten pro ml Stammlösung eingestellt.

2. Desinfektion der Oocysten (Lysistest)

Die zu prüfenden Desinfektionsmittel wurden unmittelbar vor jedem Testdurchgang in doppelter Anwendungskonzentration in Wasser (aqua bidest) angesetzt. Ausgehend von der Stammlösung wurden 1%, 2% und 4%ige Lösungen angesetzt:

15 100 µl Stammlösung + 4900 µl Aqua dest (= 1%, doppelkonzentriert !)

200 µl Stammlösung + 4800 µl Aqua dest (= 2%, doppelkonzentriert !)

400 µl Stammlösung + 4600 µl Aqua dest (= 4%, doppelkonzentriert !)

Jede Formulierung wurde in jedem Versuch als Doppelbestimmung angelegt. Pro Ansatz wurden je 0,5 ml Oocystensuspension (=12.500 Oocysten = 100%) und 0,5 ml der Desinfektionslösung in zwei 25 ml Bechergläsern aus Glas angesetzt. Für die versuchinterne nichtbehandelte Kontrolle (KI) wurden 0,5 ml Wasser mit 0,5 ml Oocystensuspension angesetzt. Während der Einwirkzeit (1h, 2h, oder 3 h) wurden die Suspensionen auf einer Schüttelmaschine in schwacher Bewegung gehalten.

Nach Ablauf der jeweiligen Einwirkzeit wurde der gesamte Inhalt der Bechergläser in jeweils einen 2000ml Erlenmeyerkolben überführt. Die Bechergläser wurden mit Wasser nachgespült und der Erlenmeyerkolben mit dem Spülwasser auf 1500 ml aufgefüllt. Die Kolbeninhalte wurden gemischt und der Überstand nach einer 24 stündigen Sedimentationszeit bei Raumtemperatur bis auf 100 ml abgegossen. Das Sediment wurde in ein 200 ml Zentrifugenröhrchen überführt und mit Wasser auf 200 ml aufgefüllt und über Nacht stehen gelassen. Am nächsten Tag wurde der Überstand bis auf ca. 30 ml abgesaugt, das Sediment in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen überführt und mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Nach Mischung durch Inversion wurden pro Desinfektionsansatz je 6 x 200 µl in 6 well einer 96 well Microtiterplatte pipettiert. Die Platten wurden bis zur mikro-

skopischen Auswertung bei 4°C im Kühlschrank gelagert. Die Auszählung vorhandener Oocysten erfolgte unter einem Inversmikroskop bei 200 facher Vergrößerung. Es wurden nur intakte Oocysten ohne erkennbare Veränderung der äußeren Hülle gezählt.

3. Berechnung der „Lysisrate“

- 5 Grundlage für die Berechnung der Lysisrate waren die arithmetischen Mittelwerte der Zahl der wieder gefundenen Oocysten aus zwei Microtiterplatten (Platte 1, Platte 2, Doppelbestimmung) pro Desinfektionsansatz. Dabei wurde die Wiederfindungsrate (WR) der einzelnen Ansätze der Desinfektionsmittel zur Wiederfindungsrate der nichtbehandelten Kontrolle (KI) in Relation gesetzt (rel. WR): rel. WR [%] = WR desinfizierter Oocysten x 100/WR Kontrolle (KI) [%]. die Wirksamkeit
10 der Desinfektionsformulierungen drückte sich in der „Lysisrate“ der Oocysten aus und ergab sich aus der Differenz zu 100: Lysisrate [%] = 100-rel. WR [%].

4. Hauptprüfung in vivo (Infektionstest mit Hühnerküken).

- Um festzustellen, ob desinfizierte Oocysten wirklich abgetötet sind und ihre Infektiosität verloren haben, ist nach Richtlinien der Deutschen Veterinär Gesellschaft DVG auch ein Infektionstest
15 desinfizierter Oocysten an Hühnerküken erforderlich.

- In unseren Versuchen wurden ca. 14 Tage alte LSL-Legetypküken mit desinfizierten Oocysten infiziert. die Dichte der nach Desinfektion und Stoppen der Reaktion erhaltenen Oocystensuspension wurde hierfür mit dem für die entsprechenden Kontrollen ermittelten Verdünnungsfaktor auf eine theoretische Dosis von 2000/ml verdünnt. Dazu wurden die Werte der Auszählung der 96 well
20 Microtiterplatten aus dem Lysistest in vitro herangezogen um zu ermitteln, wie viel ml Suspension aus dem 50 ml Röhrchen der KI 2000 sporulierte Oocysten enthalten. Das hierbei ermittelte Volumen wurde auch allen anderen Desinfektionsansätzen für die Infektion entnommen, unabhängig von der Anzahl der darin vorkommenden Oocysten. Das Applikationsvolumen pro Küken betrug 0,5 ml. Zusätzlich zur internen Versuchskontrolle wurde eine Infektionskontrolle aus der ursprünglichen Oocystensuspension auf 2000 Oocysten/ml in einem Volumen von 0,3 ml eingestellt. Am
25 Tag 7 nach der Infektion wurden die Tiere schmerzlos mit Kohlendioxid abgetötet.

- Für die Beurteilung der Wirksamkeit wurden die folgenden Kriterien berücksichtigt: Gewichtszunahme von Versuchsbeginn bis Versuchsende, Infektionsbedingte Sterberate, makroskopische Beurteilung der Faeces hinsichtlich Durchfall und Blutausscheidung an den Tagen 5 und 7 p.i.
30 (Bewertung 0 bis 6), makroskopische Beurteilung der Darmschleimhaut auf Läsionen, insbesondere der Blinddärme (Bewertung 0 bis 6) und die Oocystenausscheidung. Die Zahl der Oocysten im Kot wurde mit Hilfe der McMaster-Zählkammer bestimmt. Die einzelnen Befunde wurden in Rela-

tion zu den unbehandelten nicht infizierten Kontroll-Gruppen gesetzt und eine Gesamtbewertung errechnet (Haberkorn und Greif 1999).

Versuchsergebnisse mit erfindungsgemäßen Formulierungen sind in der folgenden Tabelle beispielhaft aufgeführt. Die verbesserte Wirksamkeit der neuen Formulierungen im Vergleich zu einer nicht erfindungsgemäßen Vergleichsformulierung wird besonders an der Reduktion der Oocystenausscheidung ersichtlich.

In den Tabellen der Beispiele B, E, F, H bedeutet in Spalte „Behandlung“ die Angabe

nicht inf. Kontrolle = nicht infizierte Kontrollgruppe

inf. Kontrolle = infizierte Kontrollgruppe

10 Bsp. 1 = Formulierung Beispiel Nr.

In Spalte „Tot“ wird die Anzahl der gestorbenen Tiere/ im Versuch eingesetzten Tiere angegeben.

In der Spalte „Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle“ wird das Verhältnis des Gewichtes der behandelten Tiere zum Gewicht der nicht infizierten Kontrollgruppe angegeben. In den Spalten „Durchfall“, „Läsionen“ und „Oocysten“ werden Einzelangaben zur Wirkung gemacht. In der

15 Spalte „% Wirksamkeit“ wird die Gesamtbewertung bonitiert; 0% bedeutet keine Wirkung, 100% bedeutet volle Wirkung.

Ergebnisse der biologischen Testverfahren**Biologisches Beispiel A**

Prüfung verschiedener Desinfektions-Formulierungen (4%) gegen *Eimeria tenella* Oocysten in vitro

5 nach einer Einwirkzeit von 3 Stunden

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Anzahl der Oocysten</i>		<i>Durch- schnitt Oo- cysten</i>	<i>rel. Wiederfindungsrate %</i>	<i>Lysisrate</i>
	<i>Platte 1</i>	<i>Platte 2</i>			
Bsp. 1	0	0	0	0,0	100
Bsp. 2	0	0	0	0,0	100
Bsp. 3	5	8	6,5	15,3	84,7
Neopredisan**	32	27	29,5	69,4	30,6
Kontrolle	49	36	42,5	100	0,0

Biologisches Beispiel B:

Prüfung verschiedener Desinfektions-Formulierungen (4%) gegen *Eimeria tenella* an Hühnerküken in vivo nach einer Einwirkzeit von 3 Stunden

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Tot</i>	<i>Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle</i>	<i>Durch- fall Score 1-6</i>	<i>Läsio- nen Score 1-6</i>	<i>Oo- cysten</i>	<i>Oocysten in % der inf. Kontrolle</i>	<i>% Wirksam- keit</i>
nicht inf. Kontrolle	0/6	100	0	0	0	0	100
infizierte Kontrolle	0/3	92	0-4	6	45000	100	0
Bsp. 2	0/3	>100	0	2	200	0,4	92
Bsp. 3	0/3	79	0	0	0	0	92
Bsp. 4	0/3	90	0	0	200	0,4	92
Bsp. 5	0/3	90	0	1,3	0	0	85
Bsp. 7	0/3	93	0	0	0	0	100
Neopredi- san**	0/3	>100	0	0	35000	78	54

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Tot</i>	<i>Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle</i>	<i>Durch- fall Score 1-6</i>	<i>Läsio- nen Score 1-6</i>	<i>Oo- cysten</i>	<i>Oocysten in % der inf. Kontrolle</i>	<i>% Wirksam- keit</i>
Ki	0/3	88	0-4	6	214000	>100	0

* nicht erfindungsgemäß

** Handelsprodukt

Biologisches Beispiel C:

5 Prüfung verschiedener Desinfektions-Formulierungen (1%, 2%, 4%) gegen *Eimeria tenella* Oocysten in vitro nach einer Einwirkzeit von 3 Stunden

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Anzahl der Oocysten</i>		<i>Durch- schnitt Oo- cysten</i>	<i>rel. Wiederfindungsrate %</i>	<i>Lysisrate</i>
	<i>Platte 1</i>	<i>Platte 2</i>			
Bsp. 3, 1%	0,2	15,0	7,6	25,9	74,1
Bsp. 3, 2%	0,3	0,3	0,3	1,1	98,9
Bsp. 3, 4%	0,0	0,8	0,4	1,4	98,6
Bsp. 6 1%	33,5	26,8	30,2	100	0
Bsp. 6,2%	7,7	16,8	12,3	41,8	58,2
Bsp. 6, 4%	0,0	0,0	0,0	0	100
Bsp. 7, 1%	22,2	36,2	29,2	99,4	0,6
Bsp. 7, 2%	8,3	8,3	8,3	28,4	71,6
Bsp. 7, 4%	4,3	5,8	5,1	17,3	82,7
Kontrolle	28,7	30,0	29,3	100	0

Biologisches Beispiel D:

Prüfung verschiedener Desinfektions-Formulierungen (4%) gegen *Eimeria tenella* Oocysten in vitro, nach einer Einwirkzeit von 1, 2 und 3 Stunden

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Anzahl der Oocysten</i>		<i>Durch- schnitt Oo- cysten</i>	<i>rel. Wiederfindungsrate %</i>	<i>Lysisrate</i>
	<i>Platte 1</i>	<i>Platte 2</i>			
Bsp. 3, 1 h	1,0	0,2	0,6	2,0	98,0
Bsp. 3, 2 h	0,2	0,8	0,5	1,7	98,3
Bsp. 3, 3 h	0,0	2,5	1,3	4,2	95,8
Bsp. 6, 1 h	0,0	0,0	0,0	0,0	100
Bsp. 6, 2 h	0,0	0,0	0,0	0,0	100
Bsp. 6, 3 h	0,0	0,0	0,0	0,0	100
Bsp. 7, 1 h	0,7	1,2	0,9	3,1	96,9
Bsp. 7, 2 h	4,7	9,2	6,9	23,2	76,8
Bsp. 7, 3 h	1,5	0,5	1,0	3,4	96,6
Kontrolle	28,8	30,7	29,8	100	0

Biologisches Beispiel E:

Prüfung verschiedener Desinfektions-Formulierungen (4%) gegen *Eimeria tenella* an Hühnerküken in vivo nach einer Einwirkzeit von 3 Stunden

<i>Behandlung Formulie- rung</i>	<i>Tot</i>	<i>Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle</i>	<i>Durch- fall Score 1-6</i>	<i>Läsio- nen Score 1-6</i>	<i>Oocysten</i>	<i>Oocysten in % der inf. Kontrolle</i>	<i>% Wirksam- keit</i>
nicht inf. Kontrolle	0/6	100	0	0	0	0	100
infizierte Kontrolle	0/3	94	0-2	4,6	106000	100	0
Bsp. 3	0/3	92	0	0	3000	3	91
Bsp. 6	0/3	>100	0	0	6000	6	91
Bsp. 7	0/3	94	0	0	2000	2	91

5 **Biologisches Beispiel F:**

Prüfung verschiedener Desinfektions-Formulierungen (4%) gegen *Eimeria tenella* Oocysten an Hühnerküken in vivo nach einer Einwirkzeit von 1 Stunde

<i>Behandlung Formulie- rung</i>	<i>Tot</i>	<i>Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle</i>	<i>Durch- fall Score 1-6</i>	<i>Läsio- nen Score 1-6</i>	<i>Oo- cysten</i>	<i>Oocysten in % der inf. Kontrolle</i>	<i>% Wirksam- keit</i>
nicht inf. Kontrolle	0/6	100	0	0	0	0	100
infizierte Kontrolle	0/3	84	0	6	1800	100	0
Bsp. 3	0/3	>100	0	0	3000	>100	45
Bsp. 6	0/3	98	0	0	0	0	100
Bsp. 7	0/3	>100	0	0	2600	>100	45

Biologisches Beispiel G:

Prüfung von Desinfektions-Formulierung Bsp. 6 (1%) gegen *Eimeria tenella* Oocysten in vitro, im Vergleich zu Neopredisan (1%) nach Einwirkzeiten von 1, 2 und 3 Stunden

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Anzahl der Oocysten</i>		<i>Durch- schnitt Oo- cysten</i>	<i>rel. Wiederfindungsrate %</i>	<i>Lysisrate</i>
	<i>Platte 1</i>	<i>Platte 2</i>			
Bsp. 6, 1h	2,17	6,67	4,42	13,3	86,7
Bsp. 6, 2h	2,50	1,83	2,17	6,5	93,5
Bsp. 6, 3h	4,00	10,00	7,00	21,1	78,9
Neopredisan 1h	26,33	24,33	25,33	76,2	23,8
Neopredisan 2h	11,50	26,33	18,92	56,9	43,1
Neopredisan 3h	24,17	20,17	22,17	66,7	33,3
Kontrolle	29,00	37,50	33,25	100,0	0,0

5 **Biologisches Beispiel H**

Prüfung von Desinfektions-Formulierung Bsp. 6 (1%, 4%) im Vergleich zu Neopredisan® (1%, 4%) gegen *Eimeria tenella* Oocysten an Hühnerküken in vivo nach einer Einwirkzeit von 1 Stunde

<i>Behandlung Formulierung</i>	<i>Tot</i>	<i>Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle</i>	<i>Durch- fall Score 1-6</i>	<i>Läsio- nen Score 1-6</i>	<i>Oo- cysten</i>	<i>Oocysten in % der inf. Kontrolle</i>	<i>% Wirksam- keit</i>
nicht inf. Kontrolle	0/6	100	0	0	0	0	100
infizierte Kontrolle	0/6	82	0-2	6		100	0
Bsp. 6 1%,	0/3	>100	0	4		14	42
Bsp. 6 4%	0/3	>100	0	0		1,4	92
Neopredi- san 1%,	0/3	>100	0-2	6		64	8

<i>Behandlung Formulie- rung</i>	<i>Tot</i>	<i>Gewicht in % der nicht inf. Kontrolle</i>	<i>Durch- fall Score 1-6</i>	<i>Läsio- nen Score 1-6</i>	<i>Oo- cysten</i>	<i>Oocysten in % der inf. Kontrolle</i>	<i>% Wirksam- keit</i>
Neopredi- san 4%,	0/3	98	0	2		87	42

REFERENZEN

- Böhm, R. (2000): Liste der nach den Richtlinien der DVG geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für die Tierhaltung (Handelspräparate). Deutsches Tierärzteblatt 9/2000.
- 5 Dauschies, A., Böse, R., Marx, J., Teich, K., Friedhoff, KT (2002): Development and application of a standardized assay for chemical disinfection of coccidia oocysts. Vet. Parasitol. 103(4):299-308.
- Mouafo, A.N., Richard, F., Entzeroth, R. (2000): Observation of sutures in the oocyst wall of *Eimeria tenella* (Apicomplexa). Parasitol. Res. 86:1015-1017.
- 10 Eckert, J. (2000): Parasitenstadien als umwelthygienisches Problem. In: Veterinärmedizinische Parasitologie 94-119. Ed.: Rommel, Eckert, Kutzer, Körting, Schnieder. Parey Buchverlag Berlin.
- Haberkorn, A., Greif, G. (1999): Animal Models of Coccidia Infection. In: Handbook of Animal Models of Infection, chapter 99. Academic Press

Patentansprüche

1. Desinfektionsmittel enthaltend
 - (a) ein chloriertes biozides Phenol
 - (b) ein weiteres chloriertes oder nicht chloriertes biozides Phenol
 - 5 (c) ein nicht chloriertes biozides Phenol und/oder Phenolderivat.
 - (d) ein Keratolytikum
2. Desinfektionsmittel gemäß Anspruch 1 enthaltend zwei verschiedene chlorierte biozide Phenole und ein nicht chloriertes biozides Phenol.
3. Desinfektionsmittel gemäß Anspruch 1 oder 2 enthaltend ein nicht chloriertes biozides
10 Phenolderivat.
4. Desinfektionsmittel gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, in dem das oder die chlorierten bioziden Phenole ausgewählt sind aus der Gruppe: 4-Chlor-3-methylphenol (PCMC, p-Chlor-m-kresol), 4-Chlor-3-ethylphenol, 2-n-Amyl-4-chlorphenol, 2-n-Hexyl-4-chlorphenol, 2-Cyclohexyl-4-chlorphenol, 4-Chlor-3,5-xylenol (PCMX, p-Chlor-m-
15 xylenol), 2,4-Dichlor-3,5-xylenol (DCMX, Dichlor-p-xylenol), 4-Chlor-2-phenylphenol, 2-Benzyl-4-chlorphenol, Benzyl-4-chlor-m-kresol, 4-Chlorbenzyl-dichlor-m-kresol.
5. Desinfektionsmittel gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, in dem das oder die nicht chlorierten bioziden Phenole ausgewählt sind aus der Gruppe: 2-Methylphenol, 3-Methylphenol, 4-Methylphenol, 4-Ethylphenol, 2,4-Dimethylphenol, 2,5-Dimethylphenol, 3,4-
20 Dimethylphenol, 2,6-Dimethylphenol, 4-n-Propylphenol, 4-n-Butylphenol, 4-n-Amylphenol, 4-n-Hexylphenol, Thymol (5-Methyl-2-Isopropylphenol), 2-Phenylphenol, 4-Phenylphenol, 2-Benzylphenol.
6. Desinfektionsmittel gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, in dem das nicht chlorierte biozide Phenolderivat ein Phenolether, insbesondere Phenoxyethanol, ist.
- 25 7. Desinfektionsmittel gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, in dem das Keratolytikum ausgewählt ist aus der Gruppe: Organische Säuren, wie Citronensäure, Ameisensäure und Salicylsäure; Harnstoff, Resorcin, Thioglykolsäure, Sulfide, 5-Fluorouracil.
8. Desinfektionsmittel gemäß Anspruch 7, in dem das Keratolytikum Salicylsäure ist.

9. Verwendung des Desinfektionsmittels gemäß einem der vorstehenden Ansprüche zur Bekämpfung von parasitischen Protozoen, Helminthen, Bakterien und/oder Hefen.
10. Verwendung gemäß Anspruch 9 zur Bekämpfung von Dauerstadien parasitischer Protozoen und/oder Helminthen.