

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS

PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 840084 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application **840084**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification (IPC⁴)
A61K 37/16

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **10.01.1984**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **10.01.1984**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **12.07.1984**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

11.01.1983 US 457212

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Chr. Hansen's Laboratory, Inc., 9015 West Maple Street, Milwaukee, Wisconsin, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Gehrman, Sybil Heldke, United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Porubcan, Randolph S., United States, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Nestemäiset tarttuvan desinfiointia ulkoisesti käytettävät aineet ja menetelmä niiden valmistamiseksi

Vätskeformiga vidhäftande desinfierande ämneskompositioner för utvärtes användning och förfarandeför framställning därav.

Nestemäiset takertuvat desinfektioaineseokset paikalliseen käyttöön ja valmistusmenetelmä -

Tämän keksinnön alue on nestemäiset desinfektioaineseokset, erityisesti kotieläimille käytettäväksi tarkoitetut desinfektioaineseokset. Nimenomainen käyttöalue on karjan utaretulehduksen ehkäisy tai hoito.

Lypsykarjan utaretulehduksen aiheuttaman taloudellisen tappion Yhdysvalloissa on arvioitu olevan yli kaksi miljardia dollaria vuosittain. Tämän ongelman suuruutta tarkastellaan teoksessa Current Concepts of Bovine Mastitis, 2. painos, 1978, julkaisija National Mastitis Council, Inc., 30F Street NW, Washington, D.C. 20001. Utaretulehduksen ehkäisyyn tai hallintaan on käytetty hyvin monia erilaisia karjan utareille tarkoitettuja nannien kastoliuoksia, ja tällä hetkellä Yhdysvalloissa on markkinoilla monia kaupallisia valmisteita. Nämä valmisteet sisältävät pääasiallisena desinfioivana aineena tavallisesti jodoforia, natriumhypokloriittia, klooriheksidiiniä tai näiden seoksia. Jodoforia 0,5-1 % sisältävät nannien kastoliuokset ovat olleet suosittuja.

Koska monet bakteeripatogeenit aiheuttavat utaretulehdusta tai ovat siinä osallisina, täytyy desinfioivan aineen toimia bakteriostaattisesti tai bakterisidisesti monia erilaisia bakteereja vastaan. Utaretulehduksen ehkäisyyn tai hoitoon tarkoitetuissa valmisteissa on käytetty erilaisia antibiootteja, mutta monilla antibiooteilla ei ole riittävän laajaa toiminta-aluetta. Lisärajoitus on se, että myytäväksi tarkoitettussa maidossa ei saa olla antibioottijäämiä.

Tähän mennessä utaretulehduksen ehkäisyyn, hallintaan tai hoitoon ei ole kehitetty täysin tyydyttävää nestemäistä koostumusta. Sellaisen ihanteellisen valmisteen tulisi olla helppo käyttää, nännejä ja utareita ärsyttämätön, bakteriostaattisesti

ja/tai bakterisidisesti tehokas utaretulehduksessa osallisina olevia patogeeneja vastaan, lypsyn ja käsittelyn välisinä aikoina niillä nännien pinnoilla kiinnipysyvä, joihin sitä on käytetty, ja kuitenkin helposti ja täydellisesti poistettavissa ennen lypsyä.

Tähän keksintöön johtaneen kokeellisen työn kuluessa havaittiin, että nestemäisen nännien desinfektioaineseoksen hyvin haluttu ainesosa sisältää kaseiinia, joka on ensin koaguloitu kuten esimerkiksi fermentoimalla maitohappoa tuottavilla bakteereilla ja sen jälkeen dispergoitu mekaanisesti ja saatettu liukoiseksi alifaattisen sulfaattidetergentin avulla kuten esimerkiksi dodekyylisulfaatin alkalimetalli- tai ammoniumsuolan avulla. Havaittiin, että kaseiinin dispergoituneet ja liukoiseksi tehdyt partikkelit saavat detergentin vaikutuksesta limamaista luonnetta. Tämä tekee desinfektioaineseoksen takertuvaksi, mikä saa sen kiinnittymään nänneihin ja utareisiin, ja kuitenkin samanaikaisesti se voidaan poistaa helposti ja täydellisesti vesipesulla haluttaessa. Seos voi olla sellaisessa happamassa pH:ssa, joka on bakteerien kasvulle inhibitorinen, ja seos voi sisältää lisäksi antimikrobiaalisia aineita. Nimenomaan se voi sisältää antibiootteja, jotka on valmistettu fermentoimalla rasvatonta kuivamaitoa sisältävää kasvatusalustaa antibioottia tuottavalla *Lactobacillus*-kannalla kuten esimerkiksi *Lactobacillus acidophilus*-kannalla.

Seos voi sisältää myös pehmennysainetta kuten esimerkiksi glyseriiniä, kuten nykyään käytetään kaupallisissa nännien kastoliuosten formulaatioissa. Pysyvimmän desinfektioaineseoksen valmistamiseksi tämän keksinnön mukaisesti on havaittu olevan tärkeää lisätä pehmennysaine sen jälkeen, kun kaseiini on detergentin avulla saatettu liukoiseksi.

Kun valmistetaan tämän keksinnön desinfektioaineseosta, saatetaan veteen dispergoitunut pääasiassa denaturoitumaton kaseiini alttiiksi koaguloitumiselle alentamalla vesiliuoksen pH kaseiinin isoelektrisen pH:n alapuolelle. Tämä voidaan saada aikaan

lisäämällä liuokseen happoa kuten esimerkiksi maitohappoa tai fermentoimalla liuosta "maitohappobakteereilla".

Tässä sovellutuksessa käytettynä termi "maitohappobakteeri" viittaa vaarattomien maitohappoa tuottavien bakteerien suureen ryhmään. Yleensä sellaiset bakteerit kykenevät fermentoimaan yksinkertaisia hiilihydraatteja kuten esimerkiksi laktoosia tai glukoosia fermentointituotteiksi, joista maitohappo on ainakin yksi ja tavallisesti runsaimmin tuotettu. Sellaisia maitohappobakteereja ovat seuraavat: *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus thermophilus*, *Lactobacillus fermentum* ja *Pediococcus cerevisiae*. Kaseiinin vesidispersio voi olla kuoritun maidon muodossa, mutta on mieluummin rasvattomasta kuivamaidosta tehdyn rekonstituoidun maidon muodossa. Liuoksessa voi olla maidon rasvattomia kuiva-aineita pitoisuudessa 6-16 paino-% kuten esimerkiksi mieluummin 10-14 % kuiva-aineita. Kaseiinin perusteella alusta voi vastaavasti sisältää kaseiinia 1,5-4,0 paino-%. Samalla perusteella vastaava suositeltu alue on noin 2,5-3,5 % kaseiinia.

Sen jälkeen kun kaseiini on koaguloitu alentamalla pH:ta kuten esimerkiksi maitohappoa lisäämällä tai sitä in situ muodostamalla, hajotetaan saatu koaguloitunut massa mekaanisesti. Koaguloituneen massan sisältävä liuos voidaan esimerkiksi käsitellä sekoittimessa tai emulgointilaitteessa, jossa syntyy riittävästi leikkausvoimia hajottamaan koaguloitunut kaseiini pieniksi partikkeleiksi. Voidaan käyttää myöskin ultraäänikäsittelyä. Sen jälkeen kun koaguloitu kaseiini on hajotettu, vesiliuokseen lisätään suhteellisen suuri määrä alifaattista sulfaattidetergenttiä.

Alifaattinen sulfaattisuola voi esimerkiksi olla alifaattisten sulfaattien natrium-, kalium- tai ammoniumsuola tai niiden seos,

ja alifaattinen ryhmä sisältää 10-18 hiiltä. Suositellut detergentit ovat alifaattisia sulfaatteja, jotka koostuvat pääasiassa dodekyylisulfaatista (C_{12} alifaattinen ryhmä). Vähäisempiä määriä C_{14} ja C_{16} alifaattisia sulfonaatteja voi olla mukana seoksessa dodekyylisulfaatin kanssa. Tulisi käyttää riittävää määrää alifaattista sulfaattidetergenttiä niin, että se saa tehokkaasti dispergoituneet kaseiinipartikkelit liukoiseksi ja muuttaa kaseiinin läpikuultavaan, liimamaiseen olomuotoon. Valittu detergenttimäärä voi esimerkiksi olla alueella 1,8-3,4 paino-osaa aktiivista detergenttiä kaseiinin paino-osaa kohden. Mieluummin detergentin määrä on alueella noin 2,4-3,2 paino-osaa aktiivista detergenttiä kaseiinin paino-osaa kohden.

Sen jälkeen kun kaseiini on saatettu liukoiseksi ja saatu suspensio stabiloitu detergentin avulla, voidaan muut lisäaineet helposti lisätä desinfektioaineseokseen. Esimerkiksi on suositeltua sekoittaa vesiliukoista pehmenysainetta seokseen, kuten esimerkiksi glyseriiniä tai muuta polyhydroksialkoholi-pehmenysainetta kuten propyleeniglykolia tai sorbitolia. Pehmenysaineen määrä on alueella 5-15 paino-% seoksen kokonaispainon suhteen. Jos glyseriiniä lisätään, suositellaan määrää noin 9-13 %.

Muita lisäaineita, joita voidaan lisätä, ovat avustavat desinfioivat aineet kuten esimerkiksi sorbiinihappo. Esimerkiksi voidaan lisätä 0,1-0,3 paino-% sorbiinihappoa seoksen painon suhteen. Lisäksi voidaan lisätä muita antimikrobiaalisia aineita kuten esimerkiksi erityisesti tiettyjen *Lactobacillus*-kantojen, mukaanlukien erityisesti *Lactobacillus acidophilus* ja/tai *Lactobacillus bulgaricus*, tuottamat antibiootin kaltaiset aineet. Suositellussa desinfektioaineseoksen valmistusmenetelmässä sellainen antibiootti tuotetaan in situ fermentoinnin aikana, jolloin samalla tuotetaan kaseiinin koaguloimiseen tarvittava maitohappo.

Tämän keksinnön desinfektioaineseoksen suositellussa valmistusmenetelmässä valmistetaan aluksi kasvatusliuos vedestä ja rasvattomasta kuivamaidosta. Liuos voi sisältää 6-16 paino-% maidon rasvattomia kuiva-aineita, mutta sisältää mieluummin 10-14 % (noin 2,5-3,5 % kaseiinia), kuten esimerkiksi tyypillisen pitoisuuden noin 12 % maidon rasvattomia kuiva-aineita (noin 3 % kaseiinia). Liuoksen pH asettuu kaseiinin isoelektrisen pH:n yläpuolelle. Esimerkiksi lähtö-pH voi olla rasvattomasta kuivamaidosta rekonstituoidun maidon luonnollinen pH kuten esimerkiksi pH-alueella 6,0-7,0.

Maitohappobakteerit voidaan lisätä elinkykyisenä kylmäkuivattuna viljelmänä tai nesteviljelmänä, jota on säilytetty jäädytettynä, tai massaympin muodossa. Kyseessä olevan sovellutuksen tarkoitukseen voidaan kylmäkuivattua viljelmää käyttää suoraan ympäin pitoisuudessa 0,5 % tai vähemmän, tai massaympiviljelmää voidaan lisätä 1-2 paino-% määrä liuos-alustan painon suhteen.

Maitohappobakteeri on mieluummin *Lactobacillus* antibioottia tuottava kanta. Esimerkiksi ympä voi olla sopiva *Lactobacillus acidophilus* ja/tai *Lactobacillus bulgaricus*-kanta. Näiden bakteerikantojen on osoitettu tuottavan antibioottisia tekijöitä, joihin viitataan kirjallisuudessa nimellä "Acidophilin" tai "Acidolin". Katso Shahani, et al, *Cultured Dairy Products Journal*, 11(4), 14-16, (1976); Shahani, et al, *Cultured Dairy Products Journal*, 12(2), 8-11 (1977); Hamdan, et al, *The Journal of Antibiotics*, 27(8), 631-636, (1974); ja US-patentti 3 689 640 (1972).

Fermentointi suoritetaan inkuboimalla siirrostettua alustaa lämpötilaolosuhteissa, joka suosii bakteerin kasvua, kuten esimerkiksi lämpötiloissa noin 30-37°C. Fermentointia jatketaan, kunnes kaseiini saostuu koaguloituneena massana, ja sen jälkeen sitä jatketaan antibiootin valmistumisen edistämiseksi, mikäli bakteerit ovat antibioottia tuottavia maitohappobakteereita. Kuten Shahani et al. ja muut yllä mainitut lähteet ovat kuvanneet, suosii "yli-inkuboiminen" antibiootin tuotantoa

Lactobacillus acidophilus- ja/tai bulgaricus-kannoilla. Esimerkiksi pH voi olla alentunut riittävästi koaguloimaan alustan 12-16 h:ssa, mutta yli-inkuboimiseksi fermentointia voidaan jatkaa 24-48 h:iin. Tavallisesti 48 h:n kokonaisfermentointiaika koaguloimiseksi ja antibiootin tuottamiseksi antaa hyvät tulokset.

Fermentoinnin lopussa pH on kaseiinin isoelektrisen pH:n alapuolella kuten esimerkiksi pH:ssa alueella noin 3,5-4,5. Tyypilliset fermentoinnin loppu-pH:t ovat noin 3-8-4,2. pH voidaan tarvittaessa säätää maitohapolla tai ammoniumhydroksidilla tuotteen lopulliseen pH-arvoon 3,8-4,6, mikä on inhibitorinen bakteeripatogeenien kasvuille. Erityisen toivottava tuotteen pH-arvo on ollut noin 4,4 (4,3-4,5).

Fermentoinnin lopussa alusta sisältää koaguloituneen kaseiinin, bakteerisolut, fermentoinnin aikana tuotetun maitohapon ja, mikäli on tuotettu, jonkin antibioottisen tekijän. Fermentoitu alusta asetetaan sitten alttiiksi mekaaniselle hajotukselle kaseiinin hajottamiseksi ja dispergoimiseksi hienoiksi partikkeleiksi. Esimerkiksi fermentoitu alusta voidaan käsitellä emulgointilaitteessa tai sekoittimessa tai ajaa suuria leikkausvoimia tuottavan pumpun läpi. Kaseiinin dispergoinnin jälkeen tai samanaikaisesti sen kanssa liuotetaan alifaattinen sulfaatti-detergentti, kuten edellä on kuvattu, alustan vesifaasiin. Käytettävät määrät ovat kuten edellä on kuvattu. Esimerkiksi aktiivista detergenttiä voi olla seoksessa 2,4-3,2 paino-osaa kaseiinin paino-osaa kohden. Kuten on jo kuvattu, saattaa detergentti, kuten esimerkiksi natrium- tai ammoniumlauryyli-sulfaatti, kaseiinipartikkelit liukoiseksi, stabiloi saadun suspension ja muuttaa kaseiinin tahmeaan, limaiseen muotoon, jota kuvataan tässä sanalla "limamainen". Detergentin lisäyksen ja kaseiinin liukoiseksi saattamisen jälkeen voidaan lisätä muita lisäaineita kuten esimerkiksi glyseriiniä kuten edellä on kuvattu.

Saadut seokset ovat käyttökelpoisia paikalliseen käyttöön eläimille ja erityisesti käytettäväksi karjan utaretulehduksen estämiseen tai hoitoon. Esimerkiksi seoksia voidaan käyttää nännien kastoliuoksena utaretulehduksen estämiseksi. Nänneihin ja utareisiin käytetty seos kuivuu osittain veden haihtuessa siitä. Jäljelle jäävä ohut kalvo seosta, joka sisältää vielä jonkin verran vettä, on takertuva, vaikka se voidaan poistaa helposti ennen seuraavaa lypsyä pesemällä nannit ja utareet vedellä.

Seoksia voi käyttää myös utaretulehduksen hoitoon kuten esimerkiksi utareensisäisenä ruiskeena. Silloin kun seos on valmistettu suositellulla tavalla, ei infusoidun eläimen maitoa tarvitse hylätä pitkää aikaa, kuten esimerkiksi 72-96 tuntia hoitokäsittelyn jälkeen.

Tämän keksinnön seokset soveltuvat myös muihin käyttöihin kuten esimerkiksi missä vain tarvitaan paikallista antimikrobiaalista ainetta. Esimerkiksi seoksia voidaan käyttää navettakarjan jalkojenkastoliuoksena. Seoksia voidaan myös käyttää kotieläinten haavojen tai sierettymien hoitoon.

Tätä keksintöä kuvataan edelleen seuraavissa esimerkeissä ja koetuloksissa.

Esimerkki 1

Kasvatusviljelmää valmistetaan 3780 litran panos liuottamalla 468,5 kg rasvatonta kuivamaitoa 3438 kg:aan vettä. Täten saadussa liuoksessa on maidon rasvattomien kuiva-aineiden pitoisuus 12 %. Rekonstituoitu maito pastöroidaan yksi tunti 90°C:ssa tai pastöroidaan muilla tunnetuilla tavoilla. Valmistetaan massaymppeviljelmä alustan siirrostamiseksi. Steriloitu 12 %:nen rekonstituoitu kuivamaitoliuos siirrostetaan 1 %:n suuruisella määrällä *Lactobacillus acidophilus*-kannan, kuten esimerkiksi kannan ATCC n:o 4356, American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, kylmäkuivattua viljelmää. Mieluummin käytetään kuitenkin kannan ATCC n:o 4356 modifikaatioita, Hansen'in

kantaa LA-1, Chr. Hansen's Laboratory, Milwaukee, Wisconsin. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää Hansen'in kantaa LA-2. Kannan LA-2 morfologiset ja biokemialliset ominaisuudet ovat kuten sekä *Lactobacillus acidophilus*-että *lactis*-kannoilla. Kannat ATCC 4356, LA-1 ja LA-2 tuottavat antibiootin kaltaisia tekijöitä, joista kirjallisuudessa käytetään nimitystä "Acidolin" ja/tai "Acidophilin". Ympyviljelmää voidaan inkuboida 37°C:ssa 16 tuntia varsinaisen ympyviljelmän saamiseksi.

1890 litran tilavuisiin määriin edellä kuvatulla tavalla valmistettua kasvatusalustaa siirrostetaan 1 % varsinaista ympyviljelmää. Siirrostettua alustaa fermentoidaan 48 tuntia 37°C:ssa. Tämä "yli-inkubointi" maksimoi Acidolin-Acidophilin-tekijöiden tuotannon. Fermentoinnin lopussa pH on tavallisesti noin 3,75-4,15, ja maidon rasvattomien kuiva-aineiden kaseiini koaguloituneessa muodossa.

Eräässä tällä hetkellä suositellussa menetelmässä valmistetaan kaksi 1890 litran tilavuista erää kasvatusalustaa esitetyn yli-inkubointimenetelmän mukaisesti, joista toiseen siirrostetaan kantaa LA-1 ja toiseen kantaa LA-2. Kun fermentointi on lopetettu, sekoitetaan molemmat viljelmät yhteen, jolloin saadaan 3780 litran tuoteseos. Tälle koaguloituneen kaseiinin sisältävälle tuoteseokselle suoritetaan sitten hajotuskäsittely emulsiolaitteessa tai sekoittimessa. Sekoitusta jatketaan, kunnes koaguloitunut massa on hajonnut, partikkelit dispergoituneet ja seos saanut tasaisen konsistenssin.

Koaguloituneen massan hajotuksen jälkeen tuoteseokseen lisätään vähitellen hitaasti, jatkuvasti sekoittaen 379 kg natriumlauryylisulfaattidetergenttiä. Täten saadaan noin 10 paino-%:n detergenttipitoisuus tuoteseoksen kokonaispainon suhteen. Suositeltu detergentti on sellainen, joka koostuu pääasiallisesti natriumlauryylisulfaatista kuten esimerkiksi "Texapon K-12", Henkel Chemical Specialties, Hoboken, New Jersey. Tämä tuote on valkoisen jauheen muodossa ja sisältää noin 89-90 % aktiivista detergenttiä.

Kun detergentti on kunnolla liuennut, lisätään 0,2 % sorbiinihappoa (7,8 kg) ja sekoitetaan tuotteeseen. Lopuksi lisätään 11 % glyseriiniä (416 kg) ja sekoitetaan tuotteeseen lopullisen kokoonpanon saamiseksi. Tuotteen pH on 4,2-4,5. Tarvittaessa pH säädetään arvoon 4,4 mieluummin maitohapolla tai ammoniumhydroksidilla. Tuote on valmis käytettäväksi nännien kastoliuoksena utaretulehduksen ehkäisyssä tai muihin kotieläinten paikallisiin desinfiointitarpeisiin.

Esimerkki II

Esimerkissä I esitetyllä tavalla valmistettu desinfektioaineseos testattiin in vitro utaretulehdusta aiheuttavien patogeenien, mukaanlukien *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* ja *Streptococcus uberis*, kasvun inhibition suhteen. Kokeet irtileikatuilla nänneillä suoritettiin seuraavasti: Brain Heart Infusion-putket siirrostettiin kullakin yllä mainitulla bakteeripatogeenilla. Putket inkuboitiin, ja tehtiin laimennussarja siten, että testiliuos sisälsi vähintään 1×10^8 pesäkkeen muodostavaa yksikköä per ml kutakin testattua bakteerikantaa. Kussakin kokeessa oli 30 irtileikattua nänniä seuraavasti: 10 negatiivisina kontrolleina, 10 1 % jodoformiiniin kastettua positiivisina kontrolleina ja 10 esimerkin I seokseen kastettua. Kaikki nännit kastettiin 15 mm:n syvyyteen bakteerien testiliuokseen, ja annettiin liian nesteen valua pois. Nännit kastettiin positiiviseen kontrolliliuokseen ja esimerkin I seokseen 30 mm:n syvyyteen, ja liian nesteen annettiin valua pois.

Eloonjääneet bakteerit poistettiin irtileikattujen nännien pinnoilta huuhtelemalla 10 ml:lla standardikasvulientä, ja kerättiin steriileihin ampulleihin. Nesteestä tehtiin maljaukset rinnakkaisille selektiivistä kasvualustaa sisältäville maljoille. Bakteereista tehtiin maljaukset sopivalle standardoidulle maljaviljelyalustalle. Maljoja inkuboitiin 37°C:ssa 24 tuntia. Inkuboinnin jälkeen bakteerit laskettiin, määritettiin bakteerimäärien logaritminen väheneminen, ja suoritettiin yhdisteiden vertailu.

Taulukossa A on esitetty koetulokset irtileikatuilla nänneillä. Tulokset on esitetty logaritmisena vähenemisenä ja tappoprosenttina. Logaritminen väheneminen on saatu vähentämällä: bakteerien lukumäärä negatiivisen kontrollin nänneillä ($\log_{10}$)-bakteerien lukumäärä koeliuokseen kastetuilla nänneillä ($\log_{10}$). Tappoprosentti on saatu jakamalla logaritminen väheneminen negatiivisen kontrollin nännien bakteerimäärän logaritmillä ja kerrottuna sadalla.

Taulukko A

Bakteerimääritykset kokeissa irtileikatuilla nänneillä

Utaretulehdus- patogeeni	1 % jodofori		Esimerkin I koostumus	
	Log vähene- minen	Tappo- %	Log vähene- minen	Tappo- %
Staph. aureus	5,52	72,7	5,50	72,3
Strep. agalactiae	6,40	96,5	6,63	100
Strep. dysgalactiae	6,48	94,9	6,52	95,5
Strep. uberis	5,53	94,3	5,56	95,0

Esimerkki III

Koaguloitu kasvuliuos valmistetaan esimerkissä I esitetyllä suositellulla tavalla, ja hajotetaan. Saatuun 3780 litran tuoteseokseen lisätään 1135 kg ammoniumlauryylisulfaatin vesiliuosta (27,5-28,5 % aktiivista detergenttiä). Sopiva detergenttiliuos, jolla on esitetty aktiivisuus, on Sandopol A, Henkel Corporation, Chemical Specialties Division, Teaneck, New Jersey. Perusteellisen sekoituksen jälkeen kasvuliuos/detergenttisekoituksen viskositeetti on alhaisempi kuin esimerkin I kasvuliuos/detergenttisekoituksen johtuen ammoniumlauryylisulfaatin mukana tulleesta lisävedestä. Viskositeetti nostetaan esimerkin I kasvuliuos/detergenttisekoituksen viskositeetin tasolle lisäämällä 21,4 kg Cocamide DEA:ta. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää muita sakeuttavia lisäaineita kuten esimerkiksi hydrokolloidisia sakeuttajia.

Seuraavaksi lisätään sorbiinihappo (7,8 kg) ja sekoitetaan tuotteeseen. Lopuksi lisätään 11 % glyseriiniä (416 kg) ja sekoi-

tetaan tuotteeseen lopullisen kokoonpanon saamiseksi. pH säädetään tarvittaessa standardoituun pH-arvoon 4,4 lisäämällä maitohappoa tai ammoniumhydroksidia.

Tuotteella, joka on valmistettu käyttämällä ammoniumlauryylisulfaattia natriumlauryylisulfaatin asemesta, on etuna suurempi lämmönkestävyys. Siksi suositellaan sen varastointia tai käyttöä alle 10°C lämpötiloissa kuten esimerkiksi lämpötiloissa alueella 0-7°C. Näissä lämpötiloissa esimerkin I natriumlauryylisulfaattituote muodostaa saostuman, joka laskeutuu valmisteen pohjaan. Stabiili suspensio voidaan kuitenkin helposti muodostaa uudelleen lämmitettäessä tuotetta yli 10°C lämpötilaan, kuten esimerkiksi 16-27°C:een, ravistelemalla tuotetta jonkin verran.

Esimerkki IV

Natriumlauryylisulfaatti- ja ammoniumlauryylisulfaattituotteet valmistetaan kuten esimerkeissä I ja II on kuvattu paitsi, että maitohappoa tuottavana bakteerina käytetään *Streptococcus cremorista* *L.acidophiluksen* ja/tai *L.bulgaricuksen* asemesta. Varsinainen ympyviljelmä valmistetaan esimerkissä I kuvatulla tavalla, ja käytetään sitten siirrostamaan 3780 litraa 12 % maidon rasvattomia kuiva-aineita sisältävää alustaa kuten on kuvattu esimerkissä I. Fermentoidaan 30°C lämpötilassa 16 tuntia. Fermentoinnin aikana tuotettu maitohappo saa aikaan maidon kuiva-aineiden koaguloitumisen. Tuotteen valmistaminen suoritetaan sitten kuten on esitetty esimerkissä I natriumlauryylisulfaattia sisältävälle tuotteelle tai esimerkissä II ammoniumlauryylisulfaattia sisältävälle tuotteelle.

Esimerkki V

3780 litran panos 12 %:sen maidon rasvattomia kuiva-aineita sisältävää kasvatusliuosta valmistetaan esimerkissä I kuvatulla tavalla. Alustaan lisätään riittävä määrä maitohappoa alentamaan pH arvoon 4,0-4,1. Bakteeriviljelmää ei lisätä eikä fermentointia suoriteta. Lisätty maitohappo koaguloi maidon

proteiinin. Saatu koaguloituneen massan sisältävä alusta käsitellään sitten kuten esimerkissä I on esitetty natriumlauryylisulfaattia sisältävän tuotteen valmistamiseksi tai kuten esimerkissä III on esitetty ammoniumlauryylisulfaattia sisältävän tuotteen valmistamiseksi. Nämä tuotteet soveltuvat käytettäviksi tarttuvina desinfektioaineseoksina paikalliseen käyttöön. Ne eivät kuitenkaan ole yhtä tasaisia ja homogeenisia kuin esimerkkien I ja III tuotteet.

Patenttivaatimukset

1. Nestemäinen takertuva desinfektioaineseos paikalliseen käyttöön, t u n n e t t u siitä, että se koostuu dispergoituneista koaguloituneen kaseiinin partikkeleista, joka suspensio perustuu veteen ja kaseiniin ja sisältää 1,5-4,0 paino-% kaseiinia ja kaseiinin paino-osaa kohden 1,8-3,4 paino-osaa alifaattista sulfaattidetergenttiä (aktiivisen aineen perusteella), joka mainittu alifaattinen sulfaatti on valittu natriumin, kaliumin ja ammoniumin alifaattisten sulfaattien tai niiden seosten joukosta ja sisältää 10-18 hiiltä alifaattisissa ryhmissään, ja joka alifaattinen sulfaatti pystyy tehokkaasti saattamaan dispergoituneet kaseiinipartikkelit liukoisiksi sekä muuttamaan kaseiinin limamaiseen olomuotoon.
2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että detergentti on natriumin alifaattinen sulfaattidetergentti, joka koostuu pääasiallisesti natriumdodekyylisulfaatista, ja jossa detergenttiä on mukana noin 2,4-3,2 paino-osaa (aktiivisen aineen perusteella) kaseiinin paino-osaa kohden.
3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että mainittu detergentti on ammoniumin alifaattinen sulfaattidetergentti, joka koostuu pääasiassa ammoniumdodekyylisulfaatista, ja jossa detergenttiä on mukana noin 2,4-3,2 paino-osaa (aktiivisen aineen perusteella) kaseiinin paino-osaa kohden.
4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että se sisältää myös 5-15 paino-% glyseriiniä seoksen kokonaispainon suhteen.
5. Patenttivaatimuksen 3 mukainen seos, t u n n e t t u siitä, että se sisältää myös 5-15 paino-% glyseriiniä seoksen kokonaispainon suhteen.

6. Nestemäinen takertuva desinfektioaineseos paikalliseen käyttöön, t u n n e t t u siitä, että se koostuu dispergoituneiden koaguloituneen kaseiinin partikkeleiden happamesta vesisuspensiosta, joka mainittu suspensio (i) perustuu veteen ja kaseiniin, ja sisältää 2,5-3,5 paino-% kaseiinia, (ii) on pH-arvoltaan 3,8-4,6 ja (iii) sisältää 2,4-3,2 paino-osaa (aktiivisen aineen perusteella) alifaattista sulfaattidetergenttiä, joka koostuu pääasiallisesti dodekyylisulfaattidetergentistä, joka on valittu natriumdodekyylisulfaatista, ammoniumdodekyylisulfaatista, ja niiden seoksista ja joka alifaattinen sulfaattidetergentti kykenee tehokkaasti saattamaan dispergoituneet kaseiinipartikkelit liukoisiksi sekä muuttamaan kaseiinin limamaiseen olomuotoon, joka seos sisältää myös 5-15 paino-% glyseriiniä seoksen kokonaispainon suhteen sekä lisäksi tehokkaan määrän *Lactobacillus acidophilus* ja/tai *Lactobacillus bulgaricus* tuottamia antibiootin kaltaisia tekijöitä.

7. Nestemäisen tarttuvan desinfektioaineseoksen valmistusmenetelmä, t u n n e t t u siitä, että

- (a) valmistetaan kasvatusliuos vedestä ja maidon rasvattomista kuiva-aineista, joka alusta sisältää 6-16 paino-% maidon rasvattomia kuiva-aineita ja jonka pH on kaseiinin isoelektrisen pH:n yläpuolella;
- (b) kasvatusliuos ympättään vaarattomilla maitohappoa tuottavilla bakteereilla;
- (c) ympätty alusta fermentoidaan samalla maitohappoa tuottaen, kunnes pH alenee sellaiseen pH-arvoon, jossa maidon rasvattomien kuiva-aineiden kaseiini saostuu koaguloituneena;
- (d) fermentointi lopetetaan ja alustassa oleva koaguloitunut kaseiini hajotetaan hienoiksi partikkeleiksi; ja
- (e) alustaan liuotetaan fermentoinnin lopetuksen jälkeen alifaattista sulfaattidetergenttiä, joka on valittu natriumin, kaliumin ja ammoniumin alifaattisista sulfaateista ja niiden seoksista ja joka alifaattinen ryhmä sisältää 10-16 hiiltä, jota detergenttiä on läsnä 2,4-3,2 paino-osaa (aktiivisen aineen perusteella) kaseiinin paino-osaa kohden, joka detergentin määrä on riittävä saattamaan kaseiinipartikkelit liukoisiksi

ja muuttamaan kaseiini limamaiseen olomuotoon tuloksena saatavassa desinfektioaineseoksessa.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että alifaattinen detergentti, joka koostuu pääasiallisesti natriumdodekyylisulfaatista.
9. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että alifaattinen sulfaattidetergentti koostuu pääasiassa ammoniumdodekyylisulfaatista.
10. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että vaaraton maitohappoa tuottava bakteeri on valittu *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*-kannoista ja niiden seoksista.
11. Nestemäisen takertuvan desinfektioaineseoksen valmistusmenetelmä, t u n n e t t u siitä, että
 - (a) valmistetaan kasvatusalusta vedestä ja maidon rasvattomista kuiva-aineista, joka alusta sisältää 10-14 paino-% maidon rasvattomia kuiva-aineita, ja jonka pH on alueella 6,0-7,0;
 - (b) kasvatusalusta ympätään ainakin jollakin antibioottisesti vaikuttavia tekijöitä tuottavalla *Lactobacillus*-kannalla, joka on valittu *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* ja niiden seoksien muodostamasta joukosta;
 - (c) ympätty alusta fermentoidaan samalla maitohappoa tuottaen, kunnes pH alenee siihen pH:hon, jossa maidon rasvattomien kuiva-aineiden sisältämä kaseiini saostuu koaguloituneena, sekä fermentointia jatketaan, kunnes on tuotettu merkittäviä määriä antibiootin kaltaisia tekijöitä;
 - (d) fermentointi lopetetaan ja alustassa oleva koaguloitunut kaseiini hajotetaan mekaanisesti hienoiksi partikkeleiksi; ja
 - (e) alifaattista sulfaattidetergenttiä liuotetaan alustaan fermentoinnin lopetuksen jälkeen, joka alifaattinen sulfaattidetergentti koostuu pääasiallisesti dodekyylisulfaattidetergentistä, jota detergenttiä on liuoksessa 2,4-3,2 paino-osaa

(aktiivisen aineen suhteen) kaseiinin paino-osaa kohden, joka detergentti on valittu natriumin ja ammoniumin alifaattisista sulfaattidetergenteistä, jonka detergentin määrä on riittävä saattamaan kaseiinipartikkelit liukoisiksi ja muuttamaan kaseiini limamaiseen olomuotoon tuloksena saatavassa desinfektioaineseoksessa.

12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että vaiheen (e) jälkeen sekoitetaan detergenttiä sisältävään alustaan glyseriiniä 5-15 paino-%:n suuruinen määrä seoksen kokonaispainon suhteen.



Missing part