

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

②

N° 79 21941

⑤④ Procédé de lutte contre les cercaires, agents de transmission des bilharzioses, au moyen de produits tensio-actifs.

⑤① Classification internationale (Int. Cl. 3). A 01 N 37/18, 25/30.

②② Date de dépôt..... 31 août 1979.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée :

④① Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 10 du 6-3-1981.

⑦① Déposant : Société anonyme dite : PRODUITS CHIMIQUES DE LA MONTAGNE NOIRE,
résidant en France.

⑦② Invention de : Claude Combes et Jean Arnaudis.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Cabinet Beau de Loménie,
55, rue d'Amsterdam, 75008 Paris.

La présente invention concerne un procédé de lutte contre les cercaires, agents de transmission des bilharzioses, au moyen de produits tensio-actifs.

Les Schistosomoses humaines ou bilharzioses sont, sur le plan de l'importance, au second rang des maladies humaines ; le nombre de malades atteint 200 à 400 millions ; elles sont de plus en voie d'extension rapide.

Quatre types principaux de Schistosomoses existent dans les pays tropicaux ou subtropicaux ; le plus répandu est provoqué par *Schistosoma mansoni* et est commun à l'Afrique et l'Amérique du Sud ; deux autres sont seulement africains, le quatrième n'existe qu'en Extrême-Orient.

Les Schistosomoses sont des maladies à vecteur ; ceux-ci sont, dans tous les cas, des mollusques aquatiques des eaux douces tropicales et subtropicales. La transmission se fait, de l'homme au mollusque par une première forme larvaire appelée miracidium, celle du mollusque à l'homme par une deuxième forme larvaire appelée cercaire.

Cette forme larvaire, le cercaire, pénètre la peau humaine lorsque celle-ci est mise en contact avec de l'eau infestée, par exemple lors des baignades, des lavages de linge ou de tout autre cause de contact.

Les moyens de lutte contre les Schistosomoses sont soit thérapeutiques, soit antivectoriels.

Les moyens thérapeutiques ne sont durables que pour des personnes qui ne se trouvent plus en contact avec des eaux infestées.

Les autres moyens sont soit des luttes contre les mollusques, soit contre les formes larvaires de transmission.

Le meilleur espoir de lutte contre les Schistosomoses est le contrôle intégré, faisant appel à la fois à la thérapeutique, à la lutte antivectorielle, à l'utilisation de cercaricides et à l'élévation du niveau d'éducation et d'hygiène.

Sur le plan thérapeutique, il existe un certain nombre de médicaments actifs contre les bilharzioses ; malheureusement ces produits pharmaceutiques n'évitent pas la réinfection des individus traités. Il est donc indispensable de disposer, parallèlement aux médicaments, de moyens permettant la lutte contre les vecteurs de transmission.

La présente invention concerne donc un moyen de lutte contre les cercaires responsables de la transmission à l'homme des bilharzioses ; ce moyen consiste à ajouter aux eaux contenant les cercaires au moins un agent tensio-actif, plus particulièrement et de préférence un agent de surface amphotère et, notamment, un agent amphotère du type alkylbétaine ou alkylamidobétaine.

Il est habituel de classer les agents de surface selon leur activité ionique, en dérivés anioniques, cationiques, non ioniques ou amphotères.

Les agents de surface anioniques sont les sels obtenus par neutralisation de molécules à longue chaîne grasse, contenant un groupement carboxylique, sulfonique à l'aide d'un agent alcalin minéral (soude, potasse ...) ou organique (amine).

Les agents de surface cationiques sont les sels obtenus par neutralisation de molécules à longue chaîne grasse, contenant un ou plusieurs azotes à l'aide d'un acide fort ou d'un agent cationisant (sulfate diméthylrique, chlorure de benzyle ...). L'azote pouvant être inclus dans un hétérocycle : (sels de pyridinium, d'imidazolinium, ...).

Les agents de surface non ioniques sont des produits ne s'ionisant pas dans l'eau et dont la solubilité est due à des groupes hydroxyles ou des ponts oxygène (dérivés de l'oxyde d'éthylène, esters de polyols ...).

Les agents de surface amphotères sont des produits contenant à la fois un ou plusieurs groupements anioniques et un ou plusieurs groupements cationiques et qui, selon le pH de leur milieu, peuvent réagir comme agent de surface anionique ou cationique (dérivés de l'alanine, de la glycine, des bêtaïnes, dérivés carboxylés d'imidazolinium ...).

L'étude de l'activité cercaricide des agents de surface a été faite à la fois in vitro et in vivo.

La méthode in vitro consiste à déterminer le temps nécessaire à l'inactivation de 50 % des cercaires, par mise en contact de lots équivalents avec des solutions d'agents de surface de concentrations variées ; on détermine ainsi la concentration en agent de surface qui inactive 50 % des cercaires (CI_{50}) présents dans l'eau et les résultats sont exprimés sur des diagrammes sur lesquels on porte en ordonnée ladite concentration CI_{50} et en abscisse le temps nécessaire

à cette inactivation.

Les essais rapportés ici ont été effectués sur *Schistosoma mansoni* mais on a pu noter, par ailleurs, que les divers *Schistosoma* avaient des sensibilités comparables vis-à-vis des agents de surface ;
5 les cercaires étaient issus de mollusques élevés dans une eau de puits profond, d'une dureté de 32,5 français et de pH 7,6. Les essais ont été effectués à température ambiante.

Sur la figure unique on donne les résultats de ces essais ; sur cette figure on a porté en ordonnée la concentration CI_{50} de
10 l'agent de surface utilisé, exprimée en milliéquivalent par litre (ceci afin de pouvoir comparer l'activité moléculaire de chaque agent de surface étudié). La concentration maximale (C_0) étudiée correspond à 300 meq/l ; les concentrations plus faibles sont obtenues par dilution de moitié de la concentration précédente. C'est ainsi que C_1
15 représente la concentration $\frac{C_0}{2}$, soit 150 meq ; la concentration $C_2 = \frac{C_0}{4}$, soit 75 meq/l ; la concentration $C_3 = \frac{C_0}{8}$, soit 37,5 meq/l.

En abscisse on a porté le logarithme du temps.

Les résultats obtenus permettent de constater, notamment, que les pentes de ces courbes sont caractéristiques de l'activité
20 ionique de l'agent de surface :

- les produits anioniques représentés sur cette courbe par le MONTELANE CL 2288 (lauryléthersulfate de sodium) et le PEROLENE LD (dodécylbenzensulfonate de sodium), ont une activité cercaricide qui décroît assez vite avec la concentration ; les deux courbes ont
25 des pentes semblables ;

- les produits non ioniques, représentés par l'OCTAROX 1030 (octylphénol condensé avec 10 molécules d'oxyde d'éthylène) ont une activité cercaricide faible aux fortes concentrations mais qui diminue moins rapidement que celle des produits anioniques au cours
30 de la dilution ;

- les produits cationiques, et c'est là une surprise car ces produits sont les plus actifs sur le plan germicide : bactéricide, fongicide, algicide, ont une activité assez importante à haute concentration mais qui diminue rapidement avec la dilution. Ils sont
35 représentés ici par l'AMONYL BR 1244 (bromure de dodécyldiméthylbenzylammonium. L'activité de ce produit est nulle en dessous de 3,5 ppm;

- les produits amphotères sont, à toutes concentrations, les meilleurs cercaricides ; ils sont représentés sur cette courbe par les AMONYL 265 BA et 380 BA.

5 Cette activité cercaricide est illustrée par le tableau I ci-après donnant pour une concentration de 1 ppm, le temps moyen d'inactivation de 50 % des cercaires.

10 Il apparaît donc clairement que si les agents de surface de divers types sont actifs in vitro contre les cercaires, les agents de surface amphotères, plus précisément les dérivés de la bétaine, sont particulièrement actifs et donc intéressants.

Les résultats obtenus sont d'autant plus intéressants que l'on peut penser que la perte du pouvoir infectant des cercaires intervient, dans le temps, bien avant l'immobilisation totale de ces cercaires.

15 Pour les essais in-vivo, une quantité standard de cercaires est utilisée pour infester un lot de souris en présence de l'agent de surface et un lot identique en présence seulement d'eau, selon la technique d'Erickson. Le contrôle de l'expérience est fait à la septième semaine, par perfusion du système veineux hépato-mésentérique
20 par la technique de Duwall et Dewitt.

La différence entre sujets testés et sujets témoins donne une indication précise sur la limitation effective, due aux agents de surface, dans la pénétration des cercaires.

Les souris blanches utilisées sont de souche OF 1.

25 Le contrôle des essais est fait :

1 - par comptage après exposition des souris, des cercaires qui n'ont pas pénétré au travers de la peau ;

2 - par comptage des parasites adultes sept semaines après la contamination ;

30 3 - par étude de la fécondité de ces parasites adultes par comptage du nombre d'oeufs de parasites par milligramme du foie des souris contaminées.

35 Ces expériences de contamination sont réalisées aux concentrations limites en agent de surface et pour des temps de contact de 15 à 60 minutes.

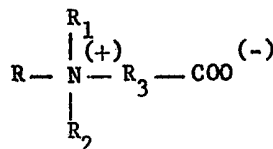
Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau II ci-après.

Les résultats rapportés dans le tableau II ci-après montrent que si les divers agents de surface sont actifs pour lutter contre la contamination par les cercaires, les agents amphotères (représentés ici par l'AMONYL 265 BA) sont les plus actifs.

5 Ainsi, si l'invention concerne l'utilisation d'agents de surface pour la lutte contre les cercaires, il est clair que les agents de surface les plus intéressants sont les produits amphotères. Les principaux agents de surface amphotères connus et utilisables sont les suivants :

- 10 - les alylbétaïnes et les alkylamidobétaïnes ;
 - les dérivés de l'imidazolinium, dont la marque commerciale la plus courante est Miranol ;
 - les dérivés de la glycine ;
 - les dérivés de la β -alanine ;
 15 - les dérivés N-alkylaminobutyriques ;
 - les N-alkylaminosuccinates et N-alkylaminopropionates.
- Parmi ces produits amphotères, les plus intéressants semblent être les dérivés des bétaïnes et, plus particulièrement, les alkyles et les alkylamidobétaïnes.

20 Ces dérivés des bétaïnes ont pour formule générale :



dans laquelle :

- 25 - R_1 est un radical alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone pouvant comporter une fonction alcool ou acide ;
 - R_2 est un radical alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone pouvant comporter une fonction alcool ;
 - R_3 est un radical aliphatique ayant 1 à 4 atomes de carbone.
 30 R est :
 - pour les alkylbétaïnes un radical alkyle ayant de 8 à 18 atomes de carbone ;

- pour les amidoalkylbétaines un radical de formule $R_4-CO-NH-R_3-$ dans laquelle R_4 est un radical alkyle ayant de 8 à 18 atomes de carbone.

Les alkylbétaines, obtenues par condensation entre une
5 amine grasse tertiaire et le monochloracétate de soude, sont des produits tensio-actifs moussants et détergents utilisés en cosmétique et détergence. Leur non-agressivité vis-à-vis de la peau est liée à leur teneur en amine tertiaire et cette teneur doit être inférieure à 1 %. C'est un produit correspondant à ces limites qui a été utilisé
10 et dont la marque commerciale est AMONYL 265 BA (marque déposée Montagne Noire).

Les alkylamidobétaines sont obtenues par réaction d'un ester méthylique d'acide gras avec une diamine, comme la diméthylaminopropylamine. Cette réaction conduit à la formation d'une alkylamido-
15 propyldiméthylamine ; amine tertiaire qui, par condensation ultérieure avec le monochloracétate de soude, donne l'alkylamidobétaine. Comme dans le cas des alkylbétaines, la non-agressivité vis-à-vis de la peau n'est obtenue que pour des teneurs en amine libre inférieures à 1 %. Le produit, répondant à cette caractéristique et utilisé dans ces
20 essais, est l'Amony 380 BA (marque déposée Montagne Noire).

La mise en oeuvre de l'invention consiste à ajouter à l'eau contenant ou susceptible de contenir des cercaires au moins un agent de surface, de préférence de type amphotère et plus particulièrement du type des alkyles ou aminoalkylbétaines. Les quantités
25 d'agent de surface à utiliser sont généralement faibles, leur concentration dans l'eau infectée étant par exemple comprise entre 0,5 et 10 ppm. Les moyens à utiliser pour ajouter l'agent de surface à l'eau infectée peuvent être extrêmement variés ; ainsi on peut verser dans l'eau infectée l'agent de surface pur ou en solution à concentration
30 connue, on peut également incorporer l'agent de surface dans les divers produits de lavage (y compris les savons).

Les exemples non limitatifs ci-après illustrent l'invention.

Exemple 1

35 On a préparé une alkylbétaine par condensation entre une amine grasse obtenue à partir des acides gras totaux de coprah et le monochloracétate de soude.

On a versé dans un bassin rempli d'eau contenant des cercaires du *Schistosoma mansoni* une quantité de cette alkylbétaine correspondant à une concentration de 2 ppm d'alkylbétaine.

L'eau ainsi traitée s'est révélée totalement inoffensive vis-à-vis des divers animaux qui y ont été trempés.

On a mélangé l'alkylbétaine ainsi préparée avec une poudre détergente du commerce ; le mélange détergent obtenu a été utilisé de façon courante pour le lavage du linge avec une eau contenant des cercaires ; le linge une fois lavé a été rincé avec de l'eau non polluée et l'eau de rinçage a été mise en contact avec divers animaux. On n'a relevé aucun cas de bilharziose chez les animaux mis en contact avec cette eau de rinçage.

Exemple 2

On a obtenu des résultats analogues à ceux décrits dans l'exemple 1 en utilisant à la place de l'alkylbétaine employée dans l'exemple 1.

a) une alkylbétaine préparée, comme décrit dans l'exemple 1, mais en partant d'acides gras de coprah ététés ;

b) une alkylamidobétaine obtenue à partir des esters méthyliques des acides gras totaux de coprah, de la diméthylaminopropylamine et du monochloracétate de soude ;

c) une alkylamidobétaine obtenue comme ci-dessus en b mais à partir d'acides gras ététés de coprah ;

d) une alkylamidobétaine obtenue à partir des esters méthyliques des acides gras totaux de coprah, de la diméthylaminoéthylamine et du monochloracétate de soude.

T A B L E A U I

Produit	Temps de vie des cercaires en présence de 1 ppm du produit
Bromure de dodécylidiméthylbenzylammonium	supérieur à 2 h 30
Dodécylbenzènesulfonate de sodium	supérieur à 2 h 30
Lauryldiéthoxyléthylsulfate de sodium	1 h 30 environ
p-Octylphénylnonaéthoxyéthanol	environ 1 h
Alkylbétaine	10 à 20 min
Alkylamidobétaine	5 à 15 min

TABLEAU II

Milieu	Dilution	Temps de contact	Nombre de Schistosomes inactivés	% C.I.	Nombre de parasites adultes après 7 semaines	%	Nombre d'oeufs par mg de foie	LD
Témoin	-	-	0	0	56-89-71-63-60 54-78-69-60-56	45,2 % 42,26%		
Octarox 1030	6 ppm	0 15 min	75-87-90-78-92 120-115-110-113-121	56,26% 77,33%	0-8-12-10-2 7-8-3-2-7	5,33% 3,6 %	258-275 229-244-415-36-0	266 184
Perolène LD	2 ppm	0 15 min	9-14-18-25-7 30-42-36-37-113	9,86% 34,4 %	12-21-13-4-20 19-18-24-0-14	9,33% 10 %	392-345-358-155-252 612-1059-933-0-886	300 698
Amony 1 265 BA	1,3 ppm	15 min 60 min	136-94-111-98-125 147-112-108-127-146	74 % 85,6 %	0-0-0-0-0 0-0-0-0-0	0 0	0-0-0-0-0 0-0-0-0-0	0 0

RE V E N D I C A T I O N S

- 1 - Procédé de lutte contre les cercaires qui sont des agents de transmission des bilharzioses, caractérisé en ce qu'on met en contact lesdits cercaires avec un agent de surface.
- 5 2 - Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que ledit agent de surface est du type amphotère.
- 3 - Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que ledit agent de surface est choisi parmi les alkyles et les alkylamidobétaïnes.
- 10 4 - Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que ladite mise en contact s'effectue en versant dans l'eau contenant lesdits cercaires une quantité d'agent de surface telle que la concentration dudit agent dans l'eau soit comprise entre 0,5 et 10 ppm.
- 15 5 - Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ladite mise en contact s'effectue en dissolvant ou dispersant dans l'eau contenant lesdits cercaires un produit de lavage contenant une quantité suffisante d'agent de surface pour que la concentration dudit agent dans l'eau atteigne entre 0,5 et 10 ppm.

PI-UNIQUE

2464027

