



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0613682-6 B1

(22) Data do Depósito: 06/07/2006

(45) Data de Concessão: 22/05/2018



(54) Título: AGENTE DE DESINFECÇÃO

(51) Int.Cl.: A01N 31/08; A01N 37/40; A01N 31/14; A01N 31/02; A01P 1/00

(30) Prioridade Unionista: 19/07/2005 DE 10 2005 033 496.2

(73) Titular(es): LANXESS DEUTSCHLAND GMBH

(72) Inventor(es): GISELA GREIF; CLAUDIO ORTIZ; GERD-FRIEDRICH RENNER; DIETMAR SCHLEGEL; ROLF MATYSIAK; ROBRECHT FROYMAN; OTTO EXNER

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**AGENTE DE DESINFECÇÃO**".

A presente invenção refere-se a um agente de desinfecção con-
tendo uma combinação especial de fenóis biocidas e eventualmente deriva-
dos de fenol, bem como um ceratolítico. O agente de desinfecção presta-se
5 especialmente para combater protozoários parasitários, inclusive suas for-
mas permanentes.

Tais agentes de desinfecção têm, por exemplo, particular signifi-
cado no combate de coccidioses em animais úteis. *Eimeria tenella* é o cau-
sador de protozoários da coccidiose aviária, uma doença, que se tornaria um
problema economicamente significativo com a manutenção intensa do piso
de pintos e galinhas. A infecção dos animais começa após o contato dos
oocistos esporulados, que são os veículos dos esporozoários unicelulares
infecciosos. Os esporozoários colonizam células do intestino em cuja prote-
15 ção realiza-se o crescimento aos milhões dos estágios parasitários. Na pato-
logia de uma doença por coccidiose incluem-se disenterias sanguinolentas,
que podem provocar grandes prejuízos econômicos devido a uma menor
absorção alimentar e perda de peso das galinhas.

Para a profilaxia dessa doença, utilizam-se atualmente anticoc-
cídios no valor de pelo menos 350 milhões de dólares americanos por ano.
20 O tratamento quimioterápico é realizado desde 1970 principalmente com os
ionoforos do poliéter monensina, narasina, salinomicina e lasalocida. Ao lado
da grave carga de medicamentos da galinha, a formação de resistências aos
medicamentos conta como sendo o maior problema do tratamento quimio-
25 térapico. O primeiro indício de um desenvolvimento de resistência é freqüen-
temente o novo aumento da eliminação de oocistos.

Uma alternativa para o tratamento quimioterápico da coccidiose
seria a prévia desinfecção dos galinheiros. Aqui, os estágios permanentes
de *Eimeria*, os chamados oocistos, são eliminados com as fezes dos animais e
30 junto com os restos de fezes e componentes alimentares podem persistir nos
pavimentos, nas superfícies de paredes, nas fendas de muros e nas instala-
ções de criação e como fonte de infecção constante, provocar novas doenças

durante um longo espaço de tempo nos animais utilizados. Oocistos de *Eimeria* ainda podem ser infecciosos até um ano após a eliminação. Nesse espaço de tempo, a propagação de oocistos por pessoas ou animais para galinheiros vizinhos é um peso adicional.

- 5 Oocistos de *Eimeria tenella* têm um tamanho de 24,5-18,3 μm e formam-se aos milhões em contato com os ciclos de crescimento assexuados em células de intestino de animais infectados. Um macrogameta feminino é fecundado por um microgameta masculino e forma o zigoto, que se cobre com duas camadas típicas: uma camada externa lisa, que resulta após a fusão dos corpos de formação de capas WFI ("wall forming body I) e uma
- 10 camada interna, que resulta após a fusão dos corpos de formação de capa WFII ("wall forming body II). Até o acabamento das duas camadas, o oocisto maduro permanece nos vacúolos parasitóforos das células de intestino infectadas e somente depois, é eliminado com as fezes. Na presença de oxigênio
- 15 começa a chamada esporulação: do esporo não diferenciado formam-se, através de uma divisão de redução, quatro esporocistos, que contêm cada dois esporozoários. A esporulação para *Eimeria tenella* dura, via de regra, 2 a 3 dias. Somente após seu término os oocistos são infecciosos.

- Construção e composição das duas paredes de oocistos são de
- 20 uma resistência bioquímico-fisiológica acentuada e representam uma barreira protetora eficaz para a sobrevivência dos germes de parasitas ao ar livre. Enquanto a parede externa de oocistos é composta por fosfolipídios, álcoois de cadeia longa e triglicerídeos, a camada interna consiste em glicoproteínas, que são estabilizadas por pontes de dissulfeto. A proteína principal da
- 25 parede de oocistos de 12-14 kDa contém aminoácidos de serina, tirosina e treonina e está ligada a carboidratos. Essas proteínas emprestam aos oocistos uma grande estabilidade estrutural contra calor ou frio. Os lipídeos da camada externa causam a alta resistência aos produtos químicos.

- Medidas de desinfecção físicas simples com respeito ao calor,
- 30 frio, secagem ou radiação, são utilizáveis de modo muito limitado. Dessa maneira, os oocistos são mortos no laboratório em poucos minutos a temperaturas de 60-100°C, no entanto, na maioria das vezes, o efeito de desinfecção

da água quente com condições práticas no galinheiro é baixo, pois a água resfria rápido demais no piso do galinheiro. Também em limpezas de alta pressão com baixos tempos de ação obtém-se apenas uma desinfecção parcial. Os oocistos apresentam uma considerável força de resistência contra o frio. Mesmo no caso de congelamento rápido de -25°C durante 14 dias os oocistos de *Eimeria* sobrevivem e continuam infecciosos. A secagem obtém um certo grau de prejuízo, porém, o processo de desinfecção mostrou-se menos confiável.

Raios gamma e de feixe de elétrons levam a partir de 3,5-4,0 kGy à perda da capacidade de esporulação de oocistos, porém, seu uso não é praticável devido aos altos custos para a aquisição dos equipamentos necessários para a agricultura.

A maioria dos agentes de desinfecção químicos eficazes contra bactérias e vírus são ineficazes contra oocistos de *Eimeria*, porque suas capas são formadas de modo quimicamente complexo e dificultam a penetração de produtos químicos. Um agente de desinfecção específico para parasitas precisa penetrar inicialmente pelas capas externas lipídicas dos oocistos e depois, afetar as glicoproteínas estáveis das capas internas antes que possa prejudicar os esporocistos e esporozoários membranosos.

Em comparação com substâncias inorgânicas agressivas, tal como soda cáustica (NaOH) ou hipoclorito de sódio (NaOCl), os oocistos de *Eimeria* são mil vezes mais resistentes do que bactérias. A capacidade de infecção dos oocistos não se perde mesmo em concentrações $> 5\%$ e um tempo de ação de 120 minutos. Em países do leste europeu, o amoníaco (NH_3) é ocasionalmente utilizado com eficácia com um tempo de ação de 24 horas, contudo, simultaneamente, o odor incômodo da atmosfera saturada de amoníaco é muito elevado.

Etanol (70-90 %) e formaldeído não têm efeito satisfatório na prática sobre os oocistos resistentes de espécies de *Eimeria*.

Alguns derivados do fenol, especialmente o p-cloro-m-cresol, estão contidos como substâncias ativas orgânicas individuais em alguns preparados comerciais (tabela 1), além disso, também em combinação com

sulfureto de carbono e clorofórmio (tabela 1). Eles são usados na prática para combater a coccidiose das aves em galinheiros vazios.

Tabela 1: Agentes de desinfecção admitidos com eficácia contra oocistos de *Eimeria* (Böhm 2000)

<i>Nome comercial</i>	<i>Substâncias ativas</i>	<i>Aplicação (% , h)</i>
Calgonit sterilizid P24	cresóis	4 %, 2 h
Dessau DES SPEZIAL N	cresóis	4 %, 2 h
ENDOSANFORTE S Neu	cresóis	4 %, 2 h
JEME®-OKOK 5	compostos de fenol	5 %, 2 h
	sulfureto de carbono	
	clorofórmio	
<u>LOMASEPT® L 20</u>	compostos de fenol	5 %, 2 h
	sulfureto de carbono	
	clorofórmio	
NEOPREDISAN 135-1	cresóis	4 %, 2 h
NOACK-DES ENDO	cresóis	4 %, 2 h

5 A WO 94/17661 descreve um agente de desinfecção com eficácia parasiticida, que contém um ou mais fenóis em combinação com ácidos orgânicos de efeito ceratolítico, éter etilenoglicoldialquílico, bem como alquil-sulfonatos ou -sulfatos de sódio ou potássio.

10 Agentes de desinfecção antiparasitários são testados na Alemanha conforme as diretrizes da Sociedade de Medicina-Veterinária da Alemanha (Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft – DVG) quanto a eficácia em oocistos de *Eimeria tenella* no ensaio de suspensão (teste de lisina), bem como no teste de infecção em pintos. Oocistos de *Eimeria tenella*, cepa "Houghton", são classificados como sendo particularmente resistentes e por
15 isso, recomendados como organismos de teste.

20 Na prática, principalmente o combate de oocistos das espécies de *Eimeria* é problemático. Todavia, a formação da parede de cistos no caso de outros protozoários, especialmente coccídeos e também de vermes, é semelhante. Conseqüentemente, a apresentação acima no exemplo de espécies de *Eimeria* pode ser transferida para esses organismos.

Com a aplicação desses sistemas de teste, foi verificado, agora, surpreendentemente, que agente contendo uma combinação de diversos fenóis biocidas ou derivados de fenóis com aplicação simultânea de ceratolíticos, supera nitidamente a eficácia desinfetante dos agentes de desinfecção existentes.

Conseqüentemente, a invenção refere-se a:

agentes de desinfecção contendo

(a) um fenol biocida clorado

(b) um outro fenol biocida clorado ou não clorado

10 (c) um outro fenol biocida não clorado e/ou um derivado de fenol

(d) um ceratolítico.

Por fenóis biocidas entendem-se aqueles compostos de fenol, que portam um grupo OH livre e apresentam um efeito biocida. Esses fenóis podem portar outros substituintes de anel, tais como, por exemplo, halogênios, especialmente cloro, C₁₋₄-alquila, C₃₋₆-cicloalquila, fenila, clorofenila, benzila e/ou clorobenzila.

Fenóis biocidas não clorados são, por exemplo: 2-metilfenol, 3-metilfenol, 4-metilfenol, 4-etilfenol, 2,4-dimetilfenol, 2,5-dimetilfenol, 3,4-dimetilfenol, 2,6-dimetilfenol, 4-n-propilfenol, 4-n-butilfenol, 4-n-amilfenol, 4-n-hexilfenol, timol (5-metil-2-isopropilfenol), 2-fenilfenol, 4-fenilfenol, 2-benzilfenol. O 2-fenilfenol é usado preferencialmente como fenol biocida não clorado.

Fenóis biocidas clorados são, por exemplo, 4-cloro-3-metilfenol (PCMC, p-cloro-m-cresol), 4-cloro-3-etilfenol, 2-n-amil-4-clorofenol, 2-n-hexil-4-clorofenol, 2-ciclohexil-4-clorofenol, 4-cloro-3,5-xilenol (PCMX, p-cloro-m-xilenol), 2,4-dicloro-3,5-xilenol (DCMX, dicloro-p-xilenol), 4-cloro-2-fenilfenol, 2-benzil-4-clorofenol, benzil-4-cloro-m-cresol, 4-clorobenzil-dicloro-m-cresol. Fenóis biocidas clorados preferidos são 2-benzil-4-clorofenol, 4-cloro-3,5-xilenol, 2,4-dicloro-3,5-xilenol, bem como especialmente 4-cloro-3-metilfenol.

Por derivados de fenol entendem-se aqui aqueles compostos derivados do fenol, cujo grupo OH é derivatizado, de modo que eles não contêm nenhum grupo OH livre. Esses são preferentemente éteres fenólicos, especialmente com álcoois alifáticos com 1 até 6 átomos de carbono. Como

exemplo preferido menciona-se o fenoxietanol.

De acordo com uma forma de concretização de acordo com a invenção, um fenol não clorado com dois fenóis clorados podem ser combinados como substâncias ativas biocidas. Um exemplo preferido é a combinação de 4-cloro-3-metilfenol, 2-fenilfenol e 2-benzil-4-clorofenol.

No entanto, foi demonstrado, que justamente o uso de derivados de fenol não clorados, especialmente fenoxietanol, junto com fenóis biocidas, via de regra, leva novamente a um aumento de efeito.

De acordo com uma forma de concretização preferida, um fenol clorado, um fenol não clorado e um derivado de fenol não clorado, especialmente fenoxietanol, podem ser usados como substâncias ativas biocidas.

De acordo com uma outra forma de concretização preferida, dois diferentes fenóis clorados e um derivado de fenol não clorado, especialmente fenoxietanol, podem ser usados como substâncias ativas biocidas.

De modo particularmente preferido, dois diferentes fenóis clorados, um fenol não clorado e um derivado de fenol não clorado, especialmente fenoxietanol, são usados como substâncias ativas biocidas. Um exemplo especialmente preferido é a combinação de 4-cloro-3-metilfenol, 2-fenilfenol, 2-benzil-4-clorofenol e fenoxietanol.

Ceratolíticos são substâncias, que influenciam queratinas e em caso extremo, podem se desnaturar ou decompor. Para os agentes de acordo com a invenção, tomam-se em consideração como ceratolíticos: ácidos orgânicos, tais como ácido cítrico, ácido fórmico e ácido salicílico; além disso, uréia, resorcinol, ácido tioglicólico, sulfetos, uréia, 5-fluorouracila. De acordo com a invenção, prefere-se o ácido salicílico.

As substâncias ativas fenólicas e o ceratolítico podem ser formulados de diferente maneira para um agente de desinfecção, sendo tomadas em consideração formulações sólidas ou líquidas.

Formulações sólidas podem ser usadas, por exemplo, na forma de pós, poeira, granulados e outros. Essas contêm usualmente excipientes e/ou coadjuvantes. As substâncias ativas podem ser misturadas com os excipientes e/ou coadjuvantes ou aplicadas nos mesmos.

No entanto, são preferidas formulações, por exemplo, na forma de emulsões, suspensões ou especialmente soluções. Formulações líquidas pode ser aplicadas diretamente, nesse caso, trata-se preferentemente de concentrados, que via de regra, antes do uso são diluídos com água para a
5 concentração apropriada.

As emulsões são ou do tipo água-em-óleo ou do tipo óleo-em-água. Elas são preparadas, em que as substâncias ativas são dissolvidas ou na fase hidrófoba ou na fase hidrófila e essa é homogeneizada com auxílio de emulsificantes apropriados e eventualmente outros coadjuvantes, tais
10 como corantes, conservantes, antioxidantes, agentes de proteção solar, substâncias aumentadoras de viscosidade, com o solvente da outra fase.

Como fase hidrófoba (óleos) sejam mencionados: óleo de parafina, óleo de silicone, óleos vegetais naturais, tais como óleo de sésamo, óleo de amêndoas, óleo de rícino, triglicerídeos sintéticos, tal como biglicerídeo de ácido caprílico/cáprico, mistura de triglicerídeos com ácidos graxos vegetais do comprimento de cadeia C_{8-12} ou outros ácidos graxos naturais especialmente selecionados, misturas parciais de glicerídeos de ácidos graxos saturados ou insaturados, eventualmente também contendo grupos hidroxila, mono- e diglicerídeos dos ácidos C_8/C_{10} . Ésteres de ácido graxo, tais
15 como estearato de etila, adipato de di-n-butila, éster hexílico de ácido láurico, pelargonato de dipropilenoglicol, ésteres de um ácido graxo ramificado de comprimento médio da cadeia com álcoois graxos saturados de comprimento de cadeia $C_{16}-C_{18}$, miristato de isopropila, palmitato de isopropila, éster de ácido caprílico/cáprico de álcoois graxos saturados do comprimento
20 de cadeia $C_{12}-C_{18}$, estearato de isopropila, éster oleílico de ácido oléico, éster decílico de ácido oléico, oleato de etila, éster etílico de ácido láctico, ésteres de ácido graxo cerosos, tais como dibutilftalato, éster diisopropílico de ácido adípico, misturas de éster derivados do mesmo, entre outros, álcoois graxos, tais como álcool isotridecílico, 2-octildodecanol, álcool cetilesteárico,
25 álcool oléico; ácidos graxos, tal como, por exemplo, ácido oléico e suas misturas.

Como fase hidrófila sejam mencionados: água, álcoois, tais co-

mo, por exemplo, propilenoglicol, glicerina, sorbitol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, n-butanol, bem como misturas desses solventes.

Como emulsificantes sejam mencionados:

5 agentes tensoativos não ionogêneos, por exemplo, óleo de rícino polioxietilado, monooleato de sorbitano polioxietilado, monoestearato de sorbitano, monoestearato de glicerina, estearato de polioxietila, éter alquilfenol-poliglicólico;

 agentes tensoativos anfotéricos, tal como N-lauril- β -iminodipropionato dissódico ou lecitina;

10 agentes tensoativos anionativos, tais como sulfatos de éter de álcool graxo, sulfonatos ou sulfatos de C_{8-18} -alquila, tal como laurilsulfato de sódio ou sulfonatos de alquila secundários (Mersolate[®], preferentemente com um comprimento de cadeia de alquila médio de 15 átomos de carbono), sal de monoetanolamina de éster de ácido mono/dialquilpoliglicoleterortofos-

15 fórico;

 agentes tensoativos cationativos, tal como cloreto de cetiltrimetilamônio.

 Como outros coadjuvantes sejam mencionados: substâncias aumentadoras de viscosidade e estabilizadoras de emulsão, tais como carboximetilcelulose, metilcelulose e outros derivados de celulose e amido, poliacrilatos, alginatos, polivinilpirrolidona, álcool polivinílico, copolímeros de éter metilvinílico e anidrido de ácido maléico, polietilenoglicóis, ceras, ácido silícico coloidal ou misturas das substâncias citadas.

20

 Suspensões são preparadas em que a substância ativa é suspensa em um líquido de excipiente eventualmente com adição de outros coadjuvantes, tais como umectantes, corantes, conservantes, antioxidantes, agentes de proteção solar.

25

 Como líquidos de excipientes tomam-se em consideração todos os solventes e misturas de solventes homogêneas mencionados aqui.

30 Como umectantes (agentes de dispersão) sejam mencionados os agentes tensoativos mencionados mais acima.

 Soluções são preparadas, em que a substância ativa é dissolvi-

da em um solvente apropriado e eventualmente são acrescentados aditivos, tais como agentes tensoativos, promotores de dissolução, ácidos, bases, sais tampão, antioxidantes, conservantes.

5 Como solventes sejam mencionados: água, álcoois, tais como alcanóis com 1 até 4 átomos de carbono (por exemplo, etanol, 1-propanol, 2-propanol, n-butanol), álcoois substituídos aromaticamente, tais como álcool benzílico, feniletanol; glicerina, glicóis, propilenoglicol, polietilenoglicóis, poli-propilenoglicóis, ésteres, tais como éster etílico de ácido acético, acetato de butila, benzoato de butila; éteres, tais como éteres alquilenoglicolalquílicos, como éter dipropilenoglicolmonometílico, éter dietilenoglicolmono-butílico, ceto-
10 nas, tais como acetona, metiletilcetona, hidrocarbonetos aromáticos e/ou alifáticos, óleos vegetais ou sintéticos, dimetilformamida (DMF), dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, 2-dimetil-4-oxi-metilen-1,3-dioxolano, bem como misturas dos mesmos.

15 Agentes tensoativos para o uso nas soluções podem ser os agentes tensoativos enumerados acima nas emulsões, esses são preferentemente agentes tensoativos aniônicos, especialmente sulfonatos ou sulfatos de C₈₋₁₈-alquila, por exemplo, sulfonatos de alquila secundários (Mersolate®), preferentemente com um comprimento de cadeia médio de 15 átomos de carbono.

20 Como promotores de dissolução sejam mencionados: solventes, que promovem a solução da substância ativa no solvente principal ou impedem sua precipitação. São exemplos a polivinilpirrolidona, óleo de rícino polioxetilado, éster de sorbitano polioxetilado.

25 Como outros coadjuvantes ou substâncias aditivas os agentes de desinfecção de acordo com a invenção, ainda podem conter corretores de dureza e/ou inibidores de corrosão.

30 Como corretores de dureza tomam-se em consideração, por exemplo, aditivos conhecidos do tratamento da água, por exemplo, ácidos fosfônicos, fosfatos em forma de cadeia ou ácidos policarboxílicos de baixo peso molecular.

Naqueles casos, nos quais os agentes de desinfecção de acordo com a invenção, ainda precisam ser diluídos para a aplicação, as substân-

cias constitutivas estão usualmente presentes nas seguintes concentrações:

- os fenóis biocidas e eventualmente derivados de fenol estão normalmente contidos em uma concentração total de 10 até 90 % em peso, preferentemente 10 até 50 % em peso, de modo particularmente preferido, de 15 até 40 % em peso, em relação ao agente de desinfecção.

Preferencialmente, a proporção de fenóis biocidas clorados para fenóis biocidas não clorados ou derivados de fenol, encontra-se na faixa de 40:60 até 90:10, preferentemente de 50:50 até 85:15, de modo particularmente preferido, de 65:35 até 82:18 (proporções de peso em relação ao peso total dos fenóis biocidas ou derivados de fenol contidos, a seguir, designados resumidamente, como biocidas fenólicos). Por exemplo, para biocidas fenólicos preferidos sejam mencionadas aqui faixas de concentração preferidas (em cada caso são mencionados % em peso, em relação ao peso total de todos os biocidas fenólicos contidos no respectivo agente):

4-cloro-3-metilfenol: 30 até 80, preferentemente 40 até 70, de modo particularmente preferido, 45 até 60 %.

2-benzil-4-clorofenol: 5 até 50, preferentemente 10 até 40, de modo particularmente preferido, 15 até 30 %.

2-fenilfenol: 5 até 60, preferentemente 10 até 50, de modo particularmente preferido, 13 até 45 %.

fenoxietanol: 3 até 30, preferentemente 5 até 25, de modo particularmente preferido, 10 até 20 %.

De acordo com uma forma de concretização particularmente preferida, o agente de desinfecção de acordo com a invenção, contém como fenóis biocidas, uma combinação de 4-cloro-3-metilfenol, 2-benzil-4-clorofenol e 2-fenilfenol, que pode conter eventualmente e de modo especialmente preferido, ainda fenoxietanol. As concentrações de substâncias ativas encontram-se, então, nas faixas mencionadas acima.

Em geral, o ceratolítico é usado nos agentes de desinfecção de acordo com a invenção, em uma proporção de peso em relação aos biocidas fenólicos de 50:50 até 10:90, preferentemente de 40:60 até 15:85, de modo particularmente preferido, de 30:70 até 20:80. Em relação ao agente de de-

sinfecção pronto (usualmente concentrado), as concentrações de ceratolítico encontram-se, via de regra, em 1 até 30 % em peso, preferentemente em 3 até 20 % em peso, de modo particularmente preferido, 5 até 18 % em peso.

Os agentes de desinfecção de acordo com a invenção, contêm preferentemente agentes tensoativos e, na verdade, usualmente em concentrações de 3 até 20 % em peso, preferentemente 5 até 20 % em peso, de modo particularmente preferido, 5 até 15 % em peso.

A fração de solvente pode variar em amplos limites. No caso dos concentrados, os solventes não aquosos, preferentemente os alcanóis com 1 até 4 átomos de carbono mencionados acima (por exemplo, etanol, 1-propanol, 2-propanol, n-butanol) são empregados usualmente em quantidades de 15 até 65 % em peso, preferentemente de 20 até 60 % em peso, de modo particularmente preferido, de 30 até 50 % em peso. Além do mais, os agentes contêm preferentemente água e, na verdade, usualmente 0 até 30 % em peso, preferentemente 5 até 25 % em peso, de modo particularmente preferido, 5 até 20 % em peso.

Os agentes de desinfecção detalhadamente descritos acima, são concentrados, que são diluídos, via de regra, com água para a aplicação. Soluções prontas para a aplicação contêm usualmente 0,5 até 20 % em volume, preferentemente 1 até 10 % em volume, de modo particularmente preferido, 1 até 5 % em volume, de concentrado do agente de desinfecção. A concentração usada pode variar dependendo da finalidade de aplicação. Por exemplo, nos agentes mais concentrados os tempos de ação necessários para um efeito satisfatório são mais curtos.

Tempos de ação típicos encontram-se, por exemplo, em 0,5 até 5 horas, preferentemente em 1 até 4 horas.

Os agentes de desinfecção de acordo com a invenção, prestam-se para o combate de protozoários parasitários e helmintos, que ocorrem no manejo e criação de animais úteis, de criação, de zoológico, de laboratório, experimentação e lazer. Nesse caso, eles são eficazes principalmente contra os estágios permanentes (estágios de cistos extracelulares).

Nos protozoários parasitários são incluídos:

Sarcomastigophora (Rhizopoda), tais como Entamoebidae, por exemplo, *Entamoeba histolytica*, Hartmanellidae, por exemplo, *Acanthamoeba* sp., *Hartmanella* sp.

- Apicomplexa (Sporozoa), especialmente coccídeos, tais como Eimeridae, por exemplo, *Eimeria acervulina*, *E. adenoides*, *E. alabamensis*, *E. anatis*,
 5 *E. anseris*, *E. arloingi*, *E. ashata*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. brunetti*, *E. canis*, *E. chinchillae*, *E. clupearum*, *E. columbae*, *E. contorta*, *E. crandalis*, *E. deblickei*, *E. dispersa*, *E. ellipsoides*, *E. falciformis*, *E. faurei*, *E. flavescens*,
 10 *E. gallopavonis*, *E. hagani*, *E. intestinalis*, *E. iroquoia*, *E. irresidua*, *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.*,
 15 tais como Toxoplasmodidae, por exemplo, *Toxoplasma gondii*, tal como Sarcocystidae, por exemplo, *Sarcocystis bovicanis*, *S. bovi hominis*, *S. ovicanis*, *S. ovifelis*, *S. spec.* e *S. sui hominis*.

- Mastigophora (Flagellata), tais como, por exemplo, *Giardia lamblia*, *G. canis*.
 20 Além disso, Myxospora e Microspora, por exemplo, *Glugea spec.*
Nosema spec.

Nos helmintos são incluídos trematódeos, tênias e nematódios.

- Nos trematódeos são incluídos, por exemplo, agentes patológicos das famílias/gêneros: *Fasciola*, *Paramphistomum*, *Dicrocoelium*, *Opisthorchis*;

- 25 nas tênias são incluídas, por exemplo, os agentes patológicos das famílias/gêneros de *Moniezia*, *Anoplocephala*, *Diphyllbothrium*, *Taenia*, *Echinococcus*, *Dipylidium*, *Raillietina*, *Choanotaenia*, *Echinuria*,

- nos nematódios são incluídos, por exemplo, os agentes patológicos das famílias/gêneros: *Strongyloides*, *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Trichuris*, *Oesophagostomum*, *Chabertia*,
 30 *Bunostomum*, *Toxocara vitulorum*, *Ascaris*, *Parascaris*, *Oxyuris*, *Oesophagostomum*, *Globocephalus*, *Hyostrongylus*, *Spirocerca*, *Toxascaris*, *Toxoca-*

ra, Ancylostoma, Uncinaria, Capillaria, Prosthogonimus, Amidostomum, Capillaria, Ascaridia, Syngamus, Acanthocephala.

Apesar da aplicação contra protozoários e helmintos, os agentes de desinfecção de acordo com a invenção, podem ser usados, por exemplo, também para o combate de bactérias, tais como, por exemplo, clostrídeos, Escherichia coli, Salmonella spec. Pseudomonas spec. Staphylococcus spec., Mycobacterium tuberculosis e de leveduras, tais como, por exemplo, Candida albicans e infecções por fungos.

Além disso, os agentes de desinfecção também podem ser usados para combater vírus, tais como, por exemplo, vírus da influenza. Os vírus da influenza do tipo A e tipo B são conhecidos. Dessa maneira, os vírus aviários da influenza particularmente significativos para pássaros, são os que pertencem ao tipo A. Como exemplo sejam mencionados vírus aviários da influenza do subtipo H5N1.

Nos animais úteis e de criação são incluídos mamíferos, tais como, por exemplo, bovinos, cavalos, ovelhas, porcos, cabras, camelos, búfalos, burros, mulas, zebras, coelhos, caça grossa, renas, animais de pele, tais como, por exemplo, martas, chinchilas, urso-lavador, aves, tais como, por exemplo, galinhas, gansos, perus, patos, pombos, faisões, bem como espécies de passarinhos para a criação doméstica e em zoológicos.

Nos animais de lazer são incluídos cães e gatos.

Os agentes de desinfecção de acordo com a invenção, prestam-se principalmente para o uso na criação de animais em massa, especialmente, por exemplo, na criação de aves (por exemplo, na criação de galinhas), na criação de bezerros ou porcos.

Exemplos

I. Exemplos de formulações

Prescrição de preparação geral

Os fenóis são dissolvidos no álcool ou na mistura de álcool sob agitação. À solução alcoólica obtida acrescentam-se água, eventualmente fenoxietanol, ácido salicílico e alcanossulfonato (Mersolat® W93) e dissolve-se sob agitação contínua.

Formulação Componentes	Exemplo nº						
	1 [g]	2 [g]	3 [g]	4 [g]	5 [g]	6 [g]	7 [g]
1-propanol	25	25	25	25	25	25	25
2-propanol	15	15	15	15	15	15	15
4-cloro-3-metilfenol	15	15	15	15	15	15	15
2-fenilfenol	10	5	5	5	5	5	10
2-benzil-4-clorofenol		5	5	5	5	5	
sulfonato de alquila secundária, comprimento de cadeia médio: C ₁₅ (Mersolat® W93)	10	10	10	10	15	10	10
ácido salicílico	10	10	10	15	10	10	10
fenoxietanol	5					5	5
água	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Material e métodos para o processo de teste biológico

O teste das formulações de desinfecção orientou-se nas diretrizes para o teste de agentes de desinfecção químicos da Sociedade de Medicina-Veterinária Alemã, bem como nos métodos de Daugschies et al. (2001) publicados.

1. Obtenção dos oocistos

Para a testagem foi usada a cepa "Houghton" de *Eimeria tenella* (Institute for Animal Health, Compton Laboratories, Near Newbury, Berks. RG16 ONN, Grã-Bretanha). Para o crescimento e obtenção de oocistos, foram usados 10 pintos do tipo poedeira (cepa LSL) machos com 14 dias de vida da Fa. Brinkschulte. Os animais foram entregues como pintos de um dia no centro de animais e mantidos livres de coccídeos com ração de crescimento sem coccidiostáticos e água à vontade até o início do ensaio no centro de animais. Para a infecção, os animais foram inoculados com 13.000 oocistos por meio de sonda gástrica individualmente em 0,2 ml de água. No sétimo dia após a infecção, os animais foram 15 sacrificados sem dor com dióxido de carbono, os oocistos foram isolados dos apêndices e preparados em solução de dicromato de potássio a 2% por 4 dias para a esporulação. No dia do ensaio, o dicromato de potássio é lavado por cen-

trifugação da suspensão de oocistos, 3 vezes em cada caso, por 5 minutos com 2000 rotações por minuto e ressuspensão dos péletes em água. Após a terceira centrifugação, a suspensão de oocistos foi ajustada por meio da câmara de Bürker para uma concentração de 25.000 oocistos por ml de solução padrão.

5 2. Desinfecção dos oocistos (teste de lise)

Os agentes de desinfecção a serem testados foram preparados em água (água bidestilada) imediatamente antes de cada passagem de teste com dupla concentração de aplicação. Partindo da solução padrão, foram preparadas soluções a 1 %, 2 % e 4 %:

10 100 µl de solução padrão + 4900 µl de água destilada (= 1 %, duplamente concentrada!)

200 µl de solução padrão + 4800 µl de água destilada (= 2 %, duplamente concentrada!)

15 400 µl de solução padrão + 4600 µl de água destilada (= 4 %, duplamente concentrada!)

Cada formulação foi preparada em cada ensaio como dupla determinação. Por preparação, foram preparadas 0,5 ml cada de suspensão de oocistos (= 12.500 oocistos = 100 %) e 0,5 ml da solução de desinfecção em dois béqueres de vidro de 25 ml. Para o controle interno de ensaio não tratado (KI) foram preparados 0,5 ml de água com 0,5 ml de suspensão de oocistos. Durante o tempo de ação (1 hora, 2 horas ou 3 horas), as suspensões foram mantidas em uma máquina vibradora com movimento fraco.

Após o decurso do respectivo tempo de ação todo o conteúdo dos béqueres foi transferido para um respectivo balão Erlenmeyer de 2000 ml. Os béqueres foram enxaguados com água e o balão Erlenmeyer foi completado com a água do enxágue para 1500 ml. Os conteúdos do balão foram misturados e o sobrenadante foi despejado após um tempo de sedimentação de 24 horas à temperatura ambiente até 100 ml. O sedimento foi transferido para uma proveta de centrifugação de 200 ml e completado com água para 200 ml e deixado em repouso durante a noite. No dia seguinte, o sobrenadante foi aspirado até cerca de 30 ml, o sedimento transferido para uma proveta de centrifugação de 50 ml e completado com água para 50 ml.

Após a mistura por inversão, pipetaram-se para cada preparação de desinfecção, 6 x 200 µl cada em 6 cavidades de uma placa de microtitulação de 96 cavidades. As placas foram armazenadas até a avaliação microscópica a 4°C no refrigerador. A contagem dos oocistos presentes foi efetuada sob um microscópio de inversão com aumento de 200 vezes. Foram contados apenas oocistos intactos sem mudança reconhecível da capa externa.

3. Cálculo da "taxa de lise"

A base para o cálculo da taxa de lise eram os valores médios aritméticos do número dos oocistos novamente encontrados de duas placas de microtitulação (placa 1, placa 2, dupla determinação) para cada preparação de desinfecção. Nesse caso, a taxa de recuperação (WR) das preparações individuais dos agentes de desinfecção foi relacionada com a taxa de recuperação de controle não tratado (KI) (WR relativo): $WR \text{ relativo } [\%] = \frac{WR \text{ de oocistos desinfetados} \times 100}{WR \text{ de controle (KI)}} [\%]$. A eficácia das formulações de desinfecção foi expressa na "taxa de lise" dos oocistos e resultou da diferença para 100: $\text{taxa de lise } [\%] = 100 - \text{rel. WR } [\%]$.

4. Teste principal in vivo (teste de infecção com pintos).

Para verificar, se os oocistos desinfetados estão realmente mortos e perderam sua capacidade de infecção, é necessário, segundo as diretrizes da Sociedade de Medicina-Veterinária Alemã DVG, também um teste de infecção de oocistos desinfetados em pintos.

Em nossos ensaios, pintos do tipo postura LSL com cerca de 14 dias de vida foram infectados com oocistos desinfetados. A densidade da suspensão de oocistos obtida após a desinfecção e interrupção da reação foi diluída, para esse fim, com o fator de diluição determinado para os controles correspondentes para uma dose teórica de 2000/ml. Para isso, os valores da contagem das placas de microtitulação de 96 cavidades do teste de lise foram consultados in vitro, para determinar, quantos ml de suspensão da proveta de 50 ml do KI 2000 contêm oocistos esporulados. O volume determinado nesse caso, também foi retirado de todas as outras preparações de desinfecção para a infecção, independente do número dos oocistos presentes nas mesmas. O volume de aplicação por pinto per fez 0,5 ml.

Adicionalmente ao controle de ensaio interno, um controle de infecção da suspensão de oocistos original foi ajustada para 2000 oocistos/ml em um volume de 0,3 ml. No dia 7 após a infecção, os animais foram sacrificados sem dor com dióxido de carbono.

5 Para a avaliação da eficácia, foram considerados os seguintes critérios: aumento de peso do início do ensaio até o fim do ensaio, taxa de mortalidade condicionada pela infecção, avaliação macroscópica das fezes com respeito a diarreia e eliminação de sangue nos dias 5 e 7 p.i. (avaliação de 0 até 6), avaliação macroscópica do muco intestinal em relação às le-

10 sões, especialmente dos apêndices (avaliação de 0 até 6) e a eliminação de oocistos. O número dos oocistos nas fezes foi determinado com auxílio da câmara de contagem McMaster. Os únicos resultados foram relacionados com os grupos de controle não infectados não tratados e foi calculada uma avaliação global (Haberkorn und Greif 1999).

15 Os resultados de ensaios com formulações de acordo com a invenção, são exemplarmente mostrados na seguinte tabela. O aumento da eficácia das novas formulações em comparação com uma formulação comparativa não de acordo com a invenção, evidencia-se particularmente na redução da eliminação dos oocistos.

20 Nas tabelas dos exemplos B, E, F, H, na coluna "tratamento" a especificação controle não inf. significa grupo de controle não infectado controle inf. significa grupo de controle infectado exemplo 1 significa formulação do exemplo nº

Na coluna "morte" indica-se o número dos animais mortos/animais

25 usados no ensaio. Na coluna "peso em % do controle não infectado" indica-se a proporção do peso dos animais tratados em relação ao peso do grupo de controle não infectado. Nas colunas "diarreia", "lesões" e "oocistos" são dadas especificações individuais em relação ao efeito. Na coluna "% de eficácia" é avaliada a avaliação total; 0 % significa nenhum efeito, 100 % significa efeito total.

30 Resultados dos processos de testes biológicos

Exemplo biológico A

Teste de diversas formulações de desinfecção (4 %) contra oo-

cistos de *Eimeria tenella* in vitro após um tempo de ação de 3 horas

<i>Tratamento Formulação</i>	<i>Número dos oocistos placa I</i>	<i>Placa 2</i>	<i>Média de oocistos</i>	<i>Taxa de recupe- ração relativa %</i>	<i>Taxa de lise</i>
Exemplo 1	0	0	0	0,0	100
Exemplo 2	0	0	0	0,0	100
Exemplo 3	5	8	6,5	15,3	84,7
Neopredisan**	32	27	29,5	69,4	30,6
controle	49	36	42,5	100	0,0

Exemplo biológico B:

Teste de diversas formulações de desinfecção (4 %) contra *Eimeria tenella* em pintos in vivo após um tempo de ação de 3 horas

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Morte</i>	<i>Peso em % do contro- le não infectado</i>	<i>Contagem de diarréia 1-6</i>
Controle não infectado	0/6	100	0
Controle infectado	0/3	92	0-4
Exemplo 2	0/3	>100	0
Exemplo 3	0/3	79	0
Exemplo 4	0/3	90	0
Exemplo 5	0/3	90	0
Exemplo 7	0/3	93	0
Neopredisan**	0/3	>100	0
KI	0/3	88	0-4

5 -continuação-

<i>Tratamento formula- ção</i>	<i>Contagem de lesões 1-6</i>	<i>oocistos</i>	<i>oocistos em % do controle infectado</i>	<i>% de tempo de eficácia</i>
Controle não infectado	0	0	0	100
Controle infectado	6	45000	100	0
Exemplo 2	2	200	0,4	92
Exemplo 3	0	0	0	92
Exemplo 4	0	200	0,4	92
Exemplo 5	1,3	0	0	95
Exemplo 7	0	0	0	100
Neopredisan**	0	35000	78	54
KI	6	214000	>100	0

* não de acordo com a invenção

** produto comercial

Exemplo biológico C:

Teste de diversas formulações de desinfecção (1 %, 2 %, 4 %) contra oocistos de *Eimeria tenella* in vitro após um tempo de ação de 3 horas.

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Número dos oocistos placa 1</i>	<i>Placa 2</i>	<i>Média de oocistos</i>	<i>Taxa de recuperação relativa %</i>	<i>Taxa de lise</i>
Exemplo 3, 1%	0,2	15,0	7,6	25,9	74,1
Exemplo 3, 2%	0,3	0,3	0,3	1,1	98,9
Exemplo 3, 4%	0,0	0,8	0,4	1,4	98,6
Exemplo 6, 1%	33,5	26,8	30,2	100	0
Exemplo 6, 2%	7,7	16,8	12,3	41,8	58,2
Exemplo 6, 4%	0,0	0,0	0,0	0	100
Exemplo 7, 1%	22,2	36,2	29,2	99,4	0,6
Exemplo 7, 2%	8,3	8,3	8,3	28,4	71,6
Exemplo 7, 4%	4,3	5,8	5,1	17,3	82,7
Controle	28,7	30,0	29,3	100	0

Exemplo biológico D:

- 5 Teste de diversas formulações de desinfecção (4 %) contra oocistos de *Eimeria tenella* in vitro, após um tempo de ação de 1, 2 e 3 horas.

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Número dos oocistos placa 1</i>	<i>Placa 2</i>	<i>Média de oocistos</i>	<i>Taxa de recuperação relativa %</i>	<i>Taxa de lise</i>
Exemplo 3, 1 h	1,0	0,2	0,6	2,0	98,0
Exemplo 3, 2 h	0,2	0,8	0,5	1,7	98,3
Exemplo 3, 3 h	0,0	2,5	1,3	4,2	95,8
Exemplo 6, 1 h	0,0	0,0	0,0	0,0	100
Exemplo 6, 2 h	0,0	0,0	0,0	0,0	100
Exemplo 6, 3 h	0,0	0,0	0,0	0	100
Exemplo 7, 1h	0,7	1,2	0,9	3,1	96,9
Exemplo 7, 2 h	4,7	9,2	6,9	23,2	76,8
Exemplo 7, 3 h	1,5	0,5	1,0	3,4	96,6
Controle	28,8	30,7	29,8	100	0

Exemplo biológico E:

Teste de diversas formulações de desinfecção (4 %) contra *Eimeria tenella* em pintos in vivo após um tempo de ação de 3 horas.

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Morte</i>	<i>Peso em % do controle não infectado</i>	<i>Contagem de diarréia 1-6</i>
Controle não infectado	0/6	100	0
Controle infectado	0/3	94	0-2
Exemplo 3	0/3	92	0
Exemplo 6	0/3	>100	0
Exemplo 7	0/3	94	0

-continuação-

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Contagem de lesões 1-6</i>	<i>Oocistos</i>	<i>Oocistos em % do controle infectado</i>	<i>% de tempo de eficácia</i>
Controle não infectado	0	0	0	100
Controle infectado	4,6	10600	100	0
Exemplo 3	0	3000	3	91
Exemplo 6	0	6000	6	91
Exemplo 7	0	2000	2	91

5 Exemplo biológico F:

Teste de diversas formulações de desinfecção (4 %) contra oocistos de *Eimeria tenella* em pintos in vivo após um tempo de ação de 1 hora.

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Morte</i>	<i>Peso em % do controle não infectado</i>	<i>Contagem de diarréia 1-6</i>
Controle não infectado	0/6	100	0
Controle infectado	0/3	84	0
Exemplo 3	0/3	>100	0
Exemplo 6	0/3	98	0
Exemplo 7	0/3	>100	0

-continuação-

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Contagem de lesões 1-6</i>	<i>Oocistos</i>	<i>Oocistos em % do controle infectado</i>	<i>% de tempo de eficácia</i>
Controle não infectado	0	0	0	100
Controle infectado	6	1800	100	0
Exemplo 3	0	3000	>100	45
Exemplo 6	0	0	0	100
Exemplo 7	0	2600	>100	45

Exemplo biológico G:

Teste de formulação de desinfecção exemplo 6 (1 %) contra oocistos de *Eimeria tenella* in vitro, em comparação com Neopredisan (1 %)

5 após tempos de ação de 1, 2 e 3 horas.

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Número dos oocistos placa 1</i>	<i>Placa 2</i>	<i>Média de oocistos</i>	<i>Taxa de recuperação relativa %</i>	<i>Taxa de lise</i>
Exemplo 6, 1 h	2,17	6,67	4,42	13,3	86,7
Exemplo 6, 2 h	2,50	1,83	2,17	6,5	93,5
Exemplo 6, 3 h	4,00	10,00	7,00	21,1	78,9
Neopredisan 1 h	26,33	24,33	25,33	76,2	23,8
Neopredisan 2 h	11,50	26,33	18,92	56,9	43,1
Neopredisan 3 h	24,17	20,17	22,17	66,7	33,3
Controle	29,00	37,5	33,25	100,0	0,0

Exemplo biológico H

Teste de formulação de desinfecção exemplo 6 (1 %, 4 %) em comparação com Neopredisan® (1 %, 4 %) contra oocistos de *Eimeria tenella* em pintos in vivo após um tempo de ação de 1 hora

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Morte</i>	<i>Peso em % do controle não infectado</i>	<i>Contagem de diarreia 1-6</i>
Controle não infectado	0/6	100	0
Controle infectado	0/6	82	0-2
Exemplo 6, 1 %	0/3	>100	0
Exemplo 6, 4 %	0/3	> 100	0
Neopredisan, 1 %	0/3	>100	0-2
Neopredisan, 4 %	0/3	98	0

5 -continuação-

<i>Tratamento formulação</i>	<i>Contagem de lesões 1-6</i>	<i>Oocistos</i>	<i>Oocistos em % do controle infectado</i>	<i>% de tempo de eficácia</i>
Controle não infectado	0	0	0	100
Controle infectado	6		100	0
Exemplo 6, 1 %	4		14	42
Exemplo 6, 4 %	0		1,4	92
Neopredisan, 1 %	6		64	8
Neopredisan, 4 %	2		87	42

REFERÊNCIAS

- Böhm, R. (2000): Lista dos agentes de desinfecção testados segundo as diretivas DVG e consideradas como sendo eficazes para a criação (preparados comerciais). 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, Schneider. Parey Buchverlag Berlin.
- Haberkorn, A., Greif, G. (1999): Animal Models of Coccidia Infection. In: Handbook of Animal Models of Infection, chapter 99. Academic Press.

REIVINDICAÇÕES

1. Agente de desinfecção, caracterizado pelo fato de que compreende:

5

- (a) um fenol biocida clorado;
- (b) um outro fenol biocida clorado ou não clorado;
- (c) um fenol e fenoxietanol biocida não clorado; e
- (d) um ceratolítico,

10

sendo que os fenóis biocidas clorados são selecionados do grupo que consiste em 4-cloro-3-metilfenol (PCMC, p-cloro-m-cresol) e 2-benzil-4-clorofenol, e

sendo que o fenol biocida não clorado é 2-fenilfenol.

15

2. Agente de desinfecção, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o ceratolítico é selecionado do grupo que consiste em: ácidos orgânicos, tais como ácido cítrico, ácido fórmico e ácido salicílico; uréia, resorcinol, ácido tioglicólico, sulfetos, 5-fluorouracila.

3. Agente de desinfecção, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o ceratolítico é ácido salicílico.