



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0706676-7 B1



(22) Data do Depósito: 22/01/2007

(45) Data de Concessão: 10/03/2020

(54) Título: USO DE UMA SOLUÇÃO AQUOSA COM POTENCIAL DE OXIRREDUÇÃO

(51) Int.Cl.: A61K 33/40; A61P 29/00.

(30) Prioridade Unionista: 20/01/2006 US 60/760,567; 20/01/2006 US 60/760,645; 20/01/2006 US 60/760,635; 20/01/2006 US 60/760,557.

(73) Titular(es): OCULUS INNOVATIVE SCIENCES, INC..

(72) Inventor(es): HOJABR ALIMI; ANDRÉS GUTIÉRREZ.

(86) Pedido PCT: PCT US2007060860 de 22/01/2007

(87) Publicação PCT: WO 2007/085021 de 26/07/2007

(85) Data do Início da Fase Nacional: 21/07/2008

(57) Resumo: MÉTODOS DE TRATAMENTO OU PREVENÇÃO DE PERITONITE COM SOLUÇÃO AQUOSA COM POTENCIAL DE OXIRREDUÇÃO. É fornecido um método para tratamento ou prevenção de peritonite por administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma solução aquosa com potencial de oxirredução (ORP) que é estável por pelo menos cerca de vinte e quatro horas. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser combinada com um ou mais veículos adequados, e pode ser administrada em conjunto com um ou mais agentes terapêuticos adicionais. Ainda é fornecido um método para a prevenção de hemorragia, adesões e abscessos peritoneais.

USO DE UMA SOLUÇÃO AQUOSA COM POTENCIAL DE OXIRREDUÇÃO
REFERÊNCIA CRUZADA COM PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido de patente reivindica o benefício dos Pedidos Provisórios de Patente N^{os} U.S. 60/760.635, 5 depositado em 20 de janeiro de 2006, 60/760.567, depositado em 20 de janeiro de 2006, 60/760.645, depositado em 20 de janeiro de 2006, e 60/760.557, depositado em 20 de janeiro de 2006; todos aqui incorporados por referência em suas totalidades.

10 FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

A peritonite é uma inflamação do revestimento interno da cavidade abdominal. As causas mais comuns da peritonite são infecção bacteriana e irritação química. A peritonite bacteriana é normalmente secundária à penetração bacteriana 15 através de um órgão abdominal, como ocorre com distúrbios como apendicite, colecistite aguda, úlceras pépticas, diverticulite, obstrução intestinal, pancreatite, trombose mesentérica, doença pélvica inflamatória, tumor ou trauma penetrante, ou combinações destes. Além disso, a peritonite 20 bacteriana espontânea (SBP) pode se desenvolver sem uma fonte de contaminação óbvia. A SBP está freqüentemente associada a estados de imunossupressão como, por exemplo, ascite cirrótica ou a síndrome nefrótica. A peritonite também é uma complicação comum da diálise peritoneal 25 ambulatorial crônica (CAPD).

Embora praticamente todos os organismos tenham sido implicados na peritonite bacteriana, os organismos mais comuns são *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *C. perfringens*, *Neisseria gonorrhoea*, 30 *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia*

trachomatis, *Clostridium perfringens*, estreptococos e enterococos. Os fúngicos mais comuns que causam peritonite infecciosa são *Candida albicans*, *Candida parapsilasis* e *Aspergillus fumigatus*. Peritonite química não infecciosa
5 pode ser causada por materiais estranhos introduzidos no peritônio, por exemplo, durante cirurgia ou por trauma. A peritonite química também pode se desenvolver em condições como, por exemplo, pancreatite aguda, que introduzem materiais endógenos irritantes, tais como enzimas
10 digestivas ou bile, dentro da cavidade peritoneal.

Adesões e abscessos peritoneais são complicações de longo prazo frequentes da peritonite. Adesões peritoneais são conexões anormais de tecido fibroso entre as superfícies serosas intraperitoneais. Cirurgia e inflamação
15 abdominal são as causas mais comuns de adesões peritoneais. A infecção peritoneal é frequentemente acompanhada por inflamação peritoneal, incluindo exsudação de fibrinogênio e fibrina dentro da cavidade abdominal. A presença de fibrinogênio e fibrina promove formação de fibrose e
20 adesão.

A inflamação também resulta no acúmulo intraperitoneal de fatores de crescimento, citocinas, proteases e matriz extracelular, o que promove ainda mais a formação de fibrose e adesão. Na peritonite infecciosa, depósitos de
25 fibrina podem capturar agentes infecciosos, produzindo abscessos, os quais, por sua vez, causam mais adesões fibrosas. Adesões peritoneais limitam o movimento e a função normais dos órgãos intra-abdominais, particularmente a função normal do trato gastrintestinal. Adesões
30 peritoneais também causam dor pélvica, infertilidade e

obstruções intestinais isquêmicas.

Os abscessos peritoneais são coleções fechadas de microorganismos e células e mediadores inflamatórios (ou seja, "pus"). Os abscessos peritoneais são de difícil
5 tratamento, pois são enclausurados por cápsulas fibrosas, o que torna difícil a obtenção de níveis terapêuticos de antibióticos dentro dos abscessos peritoneais. Os abscessos peritoneais podem ser a fonte de infecções sérias em órgãos distantes e sépsis. Dessa forma, as adesões e os abscessos
10 peritoneais constituem uma causa importante de morbidade e mortalidade. O tratamento ou prevenção eficaz da peritonite pode reduzir significativamente o risco de desenvolvimento de adesões e abscessos intraperitoneais.

Os métodos usados atualmente para o tratamento ou a
15 prevenção de peritonite são limitados. Em alguns casos, a peritonite química pode responder à irrigação da cavidade abdominal. Foi recomendado o uso de múltiplas re-explorações e lavagem intra-operatória com grandes quantidades de soro fisiológico estéril para reduzir o
20 risco de infecção peritoneal, peritonite e adesões pós-operatórias. No entanto, ainda há um risco significativo de desenvolvimento de peritonite e adesões, apesar do uso de lavagens repetidas com soro fisiológico estéril. Também foram testados vários antimicrobianos tópicos, mas nenhum
25 foi amplamente aceito para controle da fonte em função da ausência de eficácia ou de efeitos colaterais sérios (ou seja, peritonite esclerosante). Além disso, a terapia antibiótica sistêmica é frequentemente necessária, mesmo se a condição tiver etiologia originalmente química.

30 Dependendo do tipo e da gravidade da peritonite, o

quadro clínico pode progredir para uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica aguda (SIRS), sépsis ou choque séptico. A fisiopatologia dessas condições é complexa, mas pode ser associada tanto à presença de infecção quanto de
5 uma reação inflamatória aguda, local e sistemicamente. Dessa forma, mesmo nos estágios iniciais (ou seja, SIRS), há acúmulo de citocinas pró-inflamatórias na cavidade peritoneal e no sangue que contribuem para o estabelecimento de falência múltipla dos órgãos e morte.
10 Essas citocinas, pelo menos em modelos murídeos de peritonite, são derivadas principalmente de mastócitos ativados na cavidade peritoneal.

Conseqüentemente, há necessidade de métodos aprimorados de tratamento ou de prevenção de peritonite. A
15 presente invenção fornece tais métodos. Essas e outras vantagens da invenção, além de características adicionais da invenção, ficarão evidentes a partir da descrição da invenção aqui apresentada.

BREVE SUMÁRIO DA INVENÇÃO

20 A presente invenção fornece um método de tratamento ou prevenção de peritonite, em que o método inclui a administração ao paciente (por exemplo, o contato do tecido peritoneal no paciente com) uma quantidade terapêuticamente eficaz de uma solução aquosa com potencial de oxirredução
25 (ORP), em que a solução é estável por pelo menos cerca de vinte e quatro horas. De acordo com a presente invenção, uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP pode ser administrada pela liberação da solução aquosa com ORP ao tecido peritoneal (ou a outro) com o uso
30 de qualquer método de liberação adequado, para tratar ou

evitar peritonite (ou para evitar adesões locais, abscessos peritoneais, síndrome de resposta inflamatória sistêmica e falência múltipla dos órgãos a ela associadas). Uma quantidade terapêuticamente eficaz da água com ORP pode ser liberada ao espaço peritoneal do paciente no período intra-operatório, por via laparoscópica ou transabdominal. A solução aquosa com ORP pode ser liberada, por exemplo, ao tecido peritoneal afetado por peritonite ou ao tecido peritoneal em risco de desenvolver peritonite (por exemplo, como em consequência de cirurgia, procedimentos diagnósticos laparoscópicos, lesão, infecção, doença, reação alérgica, contato com um ou mais irritantes químicos ou proximidade com tecido lesionado, danificado e/ou infectado, e semelhantes).

A lavagem peritoneal, por exemplo, enxágües repetidos do peritônio com a solução aquosa com ORP, pode ser usada para realizar o método da presente invenção. A solução aquosa com ORP pode ser retida na cavidade peritoneal por qualquer período de tempo adequado, por exemplo, um período de tempo eficaz para fornecer uma resposta terapêutica, que pode ser segundos, minutos, horas ou dias. Em uma modalidade, a presente invenção fornece um método de tratamento ou prevenção de peritonite, cujo método inclui o acesso ao espaço peritoneal, por exemplo, cirurgicamente ou por via transabdominal; a liberação ao espaço peritoneal do paciente de uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP, por exemplo, cerca de 1-10 litros, permitindo que a água permaneça no espaço peritoneal por um período de tempo suficiente para efetuar uma resposta terapêutica, por exemplo, segundos, minutos ou horas;

opcionalmente, a remoção da solução aquosa com ORP do espaço peritoneal; opcionalmente, a remoção da solução aquosa com ORP do espaço peritoneal; opcionalmente, liberação de soro fisiológico ou de outra solução fisiológica, antes ou depois da liberação da água com ORP; e, opcionalmente, repetição da lavagem peritoneal por quantas vezes forem necessárias.

A presente invenção ainda fornece um método de prevenção de adesões peritoneais ou abscessos peritoneais em um paciente, cujo método inclui a administração ao paciente (por exemplo, contato do tecido peritoneal no paciente com) de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma solução aquosa com potencial de oxirredução (ORP), em que a solução é estável por pelo menos cerca de vinte e quatro horas.

A síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS) é uma síndrome que engloba as características de inflamação sistêmica sem dano ao órgão final ou bacteremia identificável. A SIRS é uma entidade separada e distinta da sépsis, sépsis grave ou choque séptico. A distinção fundamental entre a SIRS e a sépsis é a presença de um patógeno identificado no sangue. A fisiopatologia da SIRS inclui, sem limitação, ativação de complemento, secreção de metabólitos de citocina e ácido araquidônico, estimulação da imunidade mediada por células, ativação das cascatas da coagulação e mecanismos imunes humorais. Clinicamente, a SIRS é caracterizada por taquicardia, taquipnéia, hipotensão, hipoperfusão, oligúria, leucocitose ou leucopenia, febre ou hipotermia, acidose metabólica e a necessidade de reposição de volume. A SIRS pode afetar

todos os sistemas orgânicos, e pode levar à síndrome de falência múltipla dos órgãos (MODS).

Conseqüentemente, a presente invenção ainda fornece um método de prevenção de falência múltipla dos órgãos secundária à peritonite e relacionada ao desenvolvimento de SIRS ou sépsis, cujo método inclui a administração ao paciente (por exemplo, contato do tecido peritoneal no paciente com) de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma solução aquosa com potencial de oxirredução (ORP) para inibir a secreção de novas moléculas pró-inflamatórias por mastócitos, e reduzir a carga bacteriana, em que a solução é estável por pelo menos cerca de vinte e quatro horas.

A solução aquosa com ORP pode ser administrada em qualquer forma adequada de acordo com a presente invenção, por exemplo, como um líquido, spray, névoa, aerossol ou vapor, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais e, se desejado, pode ser formulada em combinação com um ou mais veículos adequados, por exemplo, veículos, adjuvantes, excipientes, diluentes, e semelhantes.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção pode estar contida dentro de um recipiente adequado (por exemplo, um recipiente lacrado estéril) no qual a solução seja estável por pelo menos cerca de vinte e quatro horas. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser produzida por eletrólise e, preferivelmente, compreende uma mistura de água oxidada (*anode water*) e água reduzida (*cathode water*), que contém uma ou mais espécies, incluindo, por exemplo, uma ou mais espécies reativas, espécies iônicas,

espécies de radicais, precursores destes e combinações destes.

Em outra modalidade, a solução aquosa com ORP compreende ácido hipocloroso em uma quantidade de cerca de 5 15 ppm a cerca de 35 ppm, hipoclorito de sódio em uma quantidade de cerca de 25 ppm a cerca de 50 ppm, é estável por pelo menos cerca de uma semana, e possui um pH de cerca de 6,2 a cerca de 7,8. A quantidade total de espécies químicas oxidantes presente na solução aquosa com ORP está 10 preferivelmente na faixa de cerca de 2 milimolar (mM) e pode incluir as espécies de cloro mencionadas anteriormente, uma ou mais espécies adicionais de água superoxidada (por exemplo, uma ou mais espécies de oxigênio), e espécies adicionais que podem ser de difícil 15 medição como, por exemplo, Cl^+ , ClO_3 , Cl_2^- e ClO_x .

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A FIG. 1 ilustra uma célula de eletrólise de três câmaras para a produção de uma solução aquosa com ORP exemplar.

20 A FIG. 2 ilustra uma célula de eletrólise de três câmaras e descreve espécies iônicas que supostamente são geradas durante o processo de produção.

A FIG. 3 é um diagrama de fluxo esquemático de um processo para a produção de uma solução aquosa com ORP 25 exemplar.

As FIGS. 4A-4C descrevem uma comparação gráfica da viabilidade celular, apoptose e necrose em fibroblastos humanos dérmicos (HDFs) tratados com uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN) versus peróxido de hidrogênio (HP).

30 A FIG. 5 é uma comparação gráfica dos níveis de adutos

de 8-hidróxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) em HDFs tratados com uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN) versus 500 μ M de peróxido de hidrogênio (HP).

5 A FIG. 6 ilustra o envelhecimento celular demonstrado por expressão de β -galactosidase em HDFs após exposição crônica a concentrações baixas de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN) versus peróxido de hidrogênio (RP).

10 A FIG. 7 ilustra o efeito sobre a degranulação de mastócitos ativados por antígeno tratados com várias concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN).

A FIG. 8 ilustra comparativamente o efeito de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN) sobre a degranulação de mastócitos ativados por antígeno tratados com cromoglicato.

15 A FIG. 9 ilustra o efeito sobre a degranulação de mastócitos ativados por antígeno e ativados por ionóforo de cálcio (A23187) tratados com várias concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN).

20 A FIG. 110-10B são ensaios de proteção de RNase que ilustram níveis de mRNA de citocina após ataque com antígeno em mastócitos de controle versus mastócitos tratados com solução aquosa com ORP.

25 A FIG. 12 é uma comparação gráfica da secreção de TNF- α por mastócitos ativados por antígeno tratados com várias concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN).

A FIG. 13 é uma comparação gráfica da secreção de MIP1- α por mastócitos ativados por antígeno tratados com várias concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN).

30 A FIG. 13 é uma comparação gráfica da secreção de IL-6

por mastócitos ativados por antígeno tratados com várias concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN).

A FIG. 14 é uma comparação gráfica da secreção de IL-13 por mastócitos ativados por antígeno tratados com várias concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (MCN).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece um método para o tratamento ou a prevenção de peritonite, para a prevenção de adesões ou abscessos a ela associados, e para a prevenção do desenvolvimento de SIRS e de insuficiência de múltiplos órgãos nesses casos, cujo método inclui a administração ao paciente (por exemplo, contato do tecido peritoneal no paciente com) de uma quantidade terapêuticamente eficaz de uma solução aquosa com potencial de oxirredução (ORP), em que a solução é estável por pelo menos cerca de vinte e quatro horas. De acordo com a invenção, a solução aquosa com ORP pode ser administrada, por exemplo, aos pacientes que possuem peritonite, possuem sintomas indicativos ou associados à peritonite, ou que estejam em risco de desenvolver peritonite (por exemplo, em consequência de cirurgia, procedimentos diagnósticos invasivos (por exemplo, laparoscopia, endoscopia), lesão, infecção, doença, alergia, reação alérgica, contato com um ou mais irritantes químicos, e semelhantes). Outra fonte potencial de peritonite em consequência de infecção seria o transplante de órgãos. Dessa forma, a solução aquosa com ORP poderia ser usada para a preparação do leito de tecido antes de transplante e/ou antes do fechamento do abdome.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é eficaz para o tratamento ou a prevenção de (por

exemplo, inibição do surgimento de, inibição do agravamento de, diminuição da probabilidade de, ou limitação) peritonite, e pode ainda evitar a formação de adesões e/ou abscessos e o desenvolvimento de IRS e de insuficiência de múltiplos órgãos a ela associada. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção possui potente atividade antiinflamatória, anti-alérgica e antiinfecciosa, embora seja praticamente livre de toxicidade para tecidos normais e células eucarióticas normais.

10 Clinicamente, verificou-se que a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é segura e eficaz para a redução da carga bacteriana peritoneal, e constatou-se que reduz a duração do período de internação hospitalar em pacientes com peritonite. A peritonite tratável ou evitável de acordo com a presente invenção pode incluir peritonite que resulta de, por exemplo, infecção bacteriana, irritação química, hemorragia, ou uma combinação destes. O método da presente invenção pode ser feito por administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP a um paciente que tenha peritonite ou a um paciente em risco de desenvolver peritonite, por exemplo, por infecção, exposição a um ou mais microorganismos infecciosos, cirurgias prolongadas, contato com um ou mais irritantes químicos, doença ou outra condição fisiológica que possa dar origem à peritonite, e combinações destes.

 O método da presente invenção pode ser usado para o tratamento ou a prevenção de peritonite resultante, por exemplo, de cirurgia, procedimentos diagnósticos ou terapêuticos invasivos (por exemplo, o uso de laparoscopia,

endoscopia), apendicite, colecistite aguda, úlceras pépticas, diverticulite, obstrução intestinal, pancreatite, doença pélvica inflamatória, tumor, diálise ou lesão, por exemplo, trauma penetrante. O método da presente invenção
5 inclui o tratamento ou a prevenção de peritonite (ou a prevenção de adesões ou abscessos) causada ou complicada (por exemplo, exacerbada) por infecção, que é realizado preferivelmente por administração da solução aquosa com ORP em uma quantidade eficaz para reduzir a carga microbiana peritoneal de um ou mais microorganismos suscetíveis. Essa
10 peritonite pode incluir, sem limitação, peritonite bacteriana espontânea, que pode ocorrer em um paciente imunossuprimido, em que a imunossupressão está associada, por exemplo, à imunodeficiência congênita ou adquirida, infecção, câncer, linfoma, leucemia, doença autoimune, má
15 nutrição, fármacos imunossupressores, cirrose hepática e síndrome nefrótica.

De acordo com esse aspecto da invenção, é desejável reduzir a carga microbiana peritoneal suficientemente para
20 tratar ou evitar peritonite, para reduzir as reações inflamatórias ou alérgicas e/ou para evitar adesões ou abscessos, que pode resultar de infecção (por exemplo, por um ou mais microorganismos suscetíveis), inflamação e sangramento. Microorganismos suscetíveis podem incluir, por
25 exemplo, vírus, bactérias, esporos e fungos. Exemplos de bactérias suscetíveis incluem, sem limitação, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *C. perfringens*, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*,
30 *Clostridium perfringens*, estreptococos, enterococos, e

combinações destes. Exemplos de fungos suscetíveis incluem, sem limitação, *Candida albicans*, *Candida parapsilasis*, *Trichophyton mentagrophytes*, e *Aspergillus fumigatus*, e combinações destes. Exemplos de vírus suscetíveis podem
5 incluir um ou mais vírus suscetíveis aqui descritos.

A invenção também fornece métodos para a morte de bactérias em biofilmes, por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa* em biofilmes. A invenção ainda fornece métodos para a morte de *Moraxella catarrhalis* e bactérias resistentes a
10 antibióticos, por exemplo, *Streptococcus* resistente a penicilina. Os métodos aqui revelados podem ser usados de acordo com a invenção para a morte de bactérias com o uso de soluções de água com ORP mais rápido do que com a utilização de bacitracina.

15 O método da presente invenção também pode ser eficaz para o tratamento ou a prevenção de peritonite (ou a prevenção de adesões ou abscessos a ela associados), que não são necessariamente causados por infecção. Essa inflamação pode incluir inflamação causada, por exemplo,
20 por reação alérgica, contato com e/ou exposição a um ou mais irritantes (por exemplo, irritantes químicos), diátese hemorrágica, e combinações destes. Essa inflamação também pode incluir inflamação que resulta da lesão ou do dano de tecidos, por exemplo, tecido peritoneal ou outro tecido, em
25 que a lesão ou o dano pode levar ou aumentar a probabilidade de peritonite. Tecidos que podem ser lesionados ou danificados podem incluir, por exemplo, o revestimento peritoneal, o mesentério, epíplon, órgãos abdominais, órgãos pélvicos, e um ou mais tecidos no espaço
30 retro-peritoneal. A lesão ou o dano pode ser causado, sem

limitação, por cirurgia, laparoscopia, endoscopia, lesão, doença (por exemplo, câncer, doença sangüínea, doença de órgão, doença de tecido, e semelhantes), diálise e combinações destes.

5 O método da presente invenção também pode ser eficaz para o tratamento ou a prevenção de peritonite (ou a prevenção de adesões ou abscessos) associada ao tecido lesionado ou danificado colonizado ou infectado com um ou mais microorganismos como, por exemplo, vírus, bactérias
10 e/ou fungos, que são suscetíveis à solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção. Bactérias suscetíveis podem incluir, por exemplo, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *C. perfringens*, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*,
15 *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*, *Clostridium perfringens*, estreptococos sp., enterococos, e combinações destes. Fungos suscetíveis podem incluir, por exemplo, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, e *Aspergillus fumigatus*, e combinações destes. Vírus
20 suscetíveis podem incluir um ou mais vírus suscetíveis aqui descritos.

O método da presente invenção ainda inclui a prevenção (por exemplo, inibição do surgimento de, inibição do agravamento de, diminuição da probabilidade de, ou
25 limitação) de SIRS e de falência múltipla dos órgãos em um paciente com peritonite pela liberação ao espaço peritoneal do paciente de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma solução aquosa com ORP, em que a solução é estável por pelo menos vinte e quatro horas. Embora sem se fixar a
30 nenhuma teoria em particular, acredita-se que a solução

aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção trate ou evite o processo inflamatório subjacente na cavidade peritoneal necessário para o desenvolvimento de SIRS e de falência múltipla dos órgãos. Além disso, acredita-se que a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção iniba a secreção de moléculas pró-inflamatórias que podem se acumular na cavidade peritoneal durante peritonite. Conseqüentemente, acredita-se que a administração da solução aquosa com ORP em uma quantidade eficaz para tratar ou evitar até mesmo peritonite subclínica possa evitar a progressão até a SIRS e a falência múltipla dos órgãos.

Surpreendentemente, verificou-se que a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é um inibidor altamente eficaz da degranulação de mastócitos, uma das cascatas biológicas primárias que causam inflamação na peritonite. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção inibe a degranulação de mastócitos, independentemente do fato de eles serem ativados com um antígeno ou um ionóforo de cálcio. Também surpreendentemente, verificou-se que a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção inibe não seletivamente a secreção de citocinas pró-inflamatórias em mastócitos. Por exemplo, a solução aquosa com ORP da presente invenção pode inibir a secreção de, por exemplo, TNF- α , MIP1- α , IL-6 e IL-13 em mastócitos. Acredita-se que a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também possa inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias em outras células que secretam citocina. Esses achados demonstram que a solução aquosa com ORP

administrada de acordo com a presente invenção deve exibir ampla eficácia anti-alérgica e antiinflamatória, o que é desejável para o tratamento ou a prevenção de peritonite, para a prevenção de adesões e abscessos a ela associados, e para a prevenção do estabelecimento de SIRS e de falência múltipla dos órgãos que pioram o prognóstico nesses casos. Acredita-se também que tenha sido possivelmente observado um efeito hemostático na prática clínica, e essa propriedade poderia ainda ser outro mecanismo pelo qual a solução aquosa com ORP reduziria a formação de fibrose e abscesso. Embora os requerentes não queiram se fixar a nenhuma teoria em particular, acredita-se que, para evitar adesões peritoneais, abscessos, SIRS e falência múltipla dos órgãos, ocorra uma atividade antimicrobiana, anti-alérgica e antiinflamatória combinadas, e a solução aquosa com ORP pode ainda fornecer possivelmente um efeito hemostático suficiente para melhorar completamente hematomas (coágulos sanguíneos intersticiais).

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente inibe a degranulação de mastócitos em mais de cerca de 50% em relação aos mastócitos não tratados, mais preferivelmente em mais de cerca de 80% em relação aos mastócitos não tratados com, ainda mais preferivelmente, em mais de cerca de 90% em relação aos mastócitos não tratados com, e ainda mais preferivelmente, em mais de cerca de 95% em relação aos mastócitos não tratados com, quando colocados em contato com a solução aquosa com ORP por até cerca de 30 minutos, mais preferivelmente, por até cerca de 15 minutos e, ainda mais preferivelmente, por até cerca de 5 minutos. De acordo com

o método da invenção, a secreção de histamina (por exemplo, por degranulação) pode ser terapêuticamente inibida pela administração da solução aquosa com ORP isoladamente ou em combinação com um diluente (por exemplo, água ou soro fisiológico). Por exemplo, a secreção de histamina pode ser terapêuticamente inibida por administração de composições nas quais a solução aquosa com ORP é diluída, por exemplo, por uma proporção de até cerca de 50% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, por uma proporção de até cerca de 25% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, por uma proporção de até cerca de 10% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, por uma proporção de até cerca de 5% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, ou até mesmo por uma proporção de até cerca de 1% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também inibe preferivelmente a secreção de TNF- α em mais de cerca de 50%, mais preferivelmente em mais de cerca de 60%, ainda mais preferivelmente, em mais de cerca de 70%, e ainda mais preferivelmente, em mais de cerca de 85%. Além disso, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também inibe preferivelmente a secreção de MIP1- α em mais de 25%, mais preferivelmente em mais de cerca de 50% e, ainda mais preferivelmente, em mais de cerca de 60%. Além disso, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também inibe preferivelmente a secreção de IL-6 ou IL-13 em mais de 25%, mais preferivelmente em mais de cerca de 50% e, ainda mais preferivelmente, em mais de cerca de 60%. De acordo com o método da invenção, a secreção de citocina pode ser inibida

terapeuticamente pela administração da solução aquosa com ORP isoladamente ou em combinação com um diluente (por exemplo, água ou soro fisiológico). Por exemplo, a secreção de citocina pode ser inibida terapêuticamente por

5 administração de composições nas quais a solução aquosa com ORP é diluída, por exemplo, até cerca de 50% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, até cerca de 25% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, até cerca de 10% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, até cerca de

10 5% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente, ou até mesmo cerca de 1% (vol/vol) de solução aquosa com ORP/diluente.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser usada para o tratamento ou a prevenção de

15 inflamação mediada por células e inflamação resultante de uma reação autoimune incluindo, sem limitação, inflamação causada por lúpus eritematoso sistêmico, tireoidite autoimune, sarcoidose, doença inflamatória do intestino, artrite reumatóide, e febre reumática. A solução aquosa com

20 ORP administrada de acordo com a invenção também pode tratar ou evitar inflamação resultante de infecção, por exemplo, por um ou mais microorganismos selecionados do grupo que consiste em vírus, bactérias e fungos, incluindo hipersensibilidade e inflamação com mediação autoimune

25 causada por infecção.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também pode ser usada para o tratamento ou a prevenção de inflamação associada à hipersensibilidade. Historicamente, as reações de hipersensibilidade foram

30 classificadas como um entre quatro tipos, dos quais pode

surgir doença significativa. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser usada para tratar e/ou evitar (por exemplo, inibir o surgimento de, inibir a progressão de, diminuir a probabilidade de, 5 limitar ou suprimir) uma ou mais dessas reações. A hipersensibilidade do Tipo I tipicamente resulta da combinação de um antígeno com um anticorpo ligado a um mastócito ou basófilo. As reações do Tipo I ocorrem em um intervalo de minutos de exposição ao antígeno em indivíduos 10 que foram sensibilizados previamente ao antígeno. Em seres humanos, as reações do Tipo I são mediadas por IgE, que possui receptores Fc de alta afinidade em mastócitos e basófilos.

O papel dos mastócitos na hipersensibilidade do Tipo I 15 é especialmente importante, pois eles residem em tecidos sob a superfície epitelial próximo aos vasos sanguíneos e nervos. Vários sintomas clínicos observados na dermatite atópica, rinite alérgica e asma atópica são produzidos por estimulação de antígeno por IgE de mastócitos localizados 20 em diferentes tecidos afetados. A visão aceita atualmente da patogênese de condições como, por exemplo, asma atópica, é que alérgenos iniciam o processo pelo acionamento de mastócitos pulmonares que abrigam IgE (MCs) para a liberação de mediadores como, por exemplo, histamina, 25 leucotrienos, prostaglandinas, cininas, fator de ativação de plaquetas (PAF) etc. na denominada fase inicial da reação (veja Kumar e cols., Robbins & Cotran "Pathologic Basis of Disease", 2004, pp. 193-268, que é aqui incorporado por referência). Por sua vez, esses mediadores 30 induzem broncoconstrição e aumentam a permeabilidade

vascular e a produção de muco. De acordo com esse modelo, após a ativação de mastócitos, aquelas células secretam várias citocinas, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-4, IL-5 e IL-6, que participam no recrutamento e na ativação locais de outras células inflamatórias como, por exemplo, eosinófilos, basófilos, linfócitos T, plaquetas e fagócitos mononucleares. Essas células recrutadas, por sua vez, contribuem para o desenvolvimento de uma resposta inflamatória que pode então se tornar autônoma e agravar os sintomas asmáticos. Essa resposta da fase tardia constitui um processo inflamatório de longo prazo que irá induzir alterações nos tecidos circundantes (Kumar e cols., pp. 193-268). Clinicamente, as reações do Tipo I podem ter efeitos locais como, por exemplo, rinite alérgica, ou efeitos sistêmicos, como encontrado na anafilaxia, os quais, eles próprios, podem se manifestar com coceira, urticária, sofrimento respiratório e colapso circulatório.

A hipersensibilidade do Tipo II é mediada por anticorpos dirigidos aos antígenos nas superfícies de células e no espaço extracelular. Esses anticorpos podem dirigir a lise celular ou causar a opsonização das moléculas-alvo (preparação para a fagocitose por outras células). Alternativamente, os anticorpos podem ser dirigidos para e ativar receptores da superfície celular. As condições que resultam de reações do Tipo II incluem reações a transfusões, doença de Graves (tireotoxicose), reações a fármacos, anemia perniciosa e febre reumática aguda. Na febre reumática, os anticorpos são formados contra antígenos estreptocócicos, mas reagem de forma

cruzada com tecidos humanos como, por exemplo, as valvas cardíacas.

A hipersensibilidade do Tipo III é causada por complexos imunes, que são combinações de anticorpos e
5 outras proteínas do sistema imunológico do hospedeiro, mais tipicamente proteínas do complemento. É a função normal dos anticorpos se ligar e ativar o complemento. No entanto, quando os complexos imunes macromoleculares resultantes não são processados adequadamente, eles podem produzir dano
10 tecidual persistente. Macrófagos e PMNLs podem ser ativados por complexos imunes e induzir a liberação de substâncias químicas tóxicas por essas células. As reações ao complexo imune podem ser locais e podem causar condições como, por exemplo, uma reação artro, ou causar doença sistêmica como,
15 por exemplo, doença do soro ou alguns dos aspectos do lúpus eritematoso sistêmico (LES).

A hipersensibilidade do Tipo IV é mediada por células e é denominada algumas vezes hipersensibilidade do tipo retardada. A hipersensibilidade do Tipo IV é mediada por
20 linfócitos T e freqüentemente resulta na formação de uma reação granulomatosa. Em uma reação granulomatosa, uma forma de macrófago denominada célula epitelióide tenta, mas não consegue, digerir um antígeno. A persistência do antígeno leva à liberação de citocinas que atraem
25 linfócitos adicionais, resultando em focos crônicos de inflamação. Os focos possuem concentrações elevadas de linfócitos T citotóxicos que liberam granzimas e perforinas que são tóxicas para as células adjacentes. A hipersensibilidade do Tipo IV é um componente proeminente
30 de doenças autoimunes como, por exemplo, síndrome de

Sjögren, sarcoidose e dermatite de contato.

Estados patológicos podem combinar diferentes tipos de reações de hipersensibilidade. Em doenças autoimunes, antígenos do hospedeiro estimulam a hipersensibilidade com
5 conseqüências sérias para o hospedeiro. Por exemplo, no lúpus eritematoso sistêmico, antígenos do hospedeiro induzem reações do Tipo II contra células sangüíneas, enquanto reações do Tipo III causam lesão dos vasos sangüíneos e glomerular renal. Além disso, também são
10 observadas reações de hipersensibilidade em condições iatrogênicas como, por exemplo, reações a fármacos e rejeição a transplantes. A rejeição a transplantes inclui componentes de hipersensibilidade do Tipo II e Tipo IV.

Verificou-se que a solução aquosa com ORP administrada
15 de acordo com a invenção é praticamente isenta de toxicidade para tecidos normais e células mamíferas normais. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente não causa diminuição significativa na viabilidade de células eucarióticas, não
20 causa aumento significativo da apoptose, não causa aceleração significativa do envelhecimento celular e/ou não causa dano oxidativo significativo do DNA em células mamíferas. A não toxicidade é particularmente vantajosa e talvez até mesmo surpreendente, considerando que o poder
25 desinfetante da solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é aproximadamente equivalente àquele do peróxido de hidrogênio, embora seja significativamente menos tóxica do que o peróxido de hidrogênio é para tecidos naturais e células mamíferas normais. Esses achados
30 demonstram que a solução aquosa com ORP administrada de

acordo com a presente invenção é segura para uso, por exemplo, em mamíferos, incluindo seres humanos.

Preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção não causa diminuição significativa na viabilidade de células mamíferas e/ou não causa aumento significativo da apoptose, aceleração de envelhecimento celular e/ou dano oxidativo do DNA em células mamíferas. A taxa de viabilidade celular é de, preferivelmente, pelo menos cerca de 65%, mais preferivelmente, pelo menos cerca de 70% e, ainda mais preferivelmente, pelo menos cerca de 75% após de cerca de 5 a cerca de 30 minutos de exposição à solução aquosa com ORP.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente faz com que até cerca de 10% de células, mais preferivelmente, apenas até cerca de 5% de células e, ainda mais preferivelmente, apenas até cerca de 3% de células, exponham Anexina-V em suas superfícies celulares, quando colocadas em contato com a solução aquosa com ORP por até cerca de trinta minutos ou menos (por exemplo, após cerca de trinta minutos ou após cerca de cinco minutos de contato com a solução aquosa com ORP).

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente faz com que menos de cerca de 15% de células, mais preferivelmente, menos de cerca de 10% de células e, ainda mais preferivelmente, menos de cerca de 5% de células expressem a enzima SA- β -galactosidase após exposição crônica à solução aquosa com ORP. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente faz com que a fração da formação de aduto

oxidativo de DNA causado por peróxido de hidrogênio em células tratadas sob condições equivalentes, por exemplo, menos de cerca de 20% da formação de aduto oxidativo de DNA, menos de cerca de 10% da formação de aduto oxidativo de DNA, ou cerca de 5% ou menos da formação de aduto oxidativo de DNA normalmente causada por peróxido de hidrogênio em células tratadas sob condições equivalentes.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção não produz degradação significativa de RNA. Conseqüentemente, o RNA extraído de culturas de células humanas após cerca de 30 minutos de exposição à solução aquosa com ORP ou após cerca de 3 horas de exposição, e analisada por eletroforese em gel desnaturante, tipicamente não exibirá degradação de RNA significativa e apresentará tipicamente duas bandas distintas que correspondem aos RNAs eucarióticos ribossômicos (ou seja, 28S e 18S), indicando que a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção deixa o RNA substancialmente intacto. Da mesma forma, o RNA extraído de culturas de células humanas após cerca de 30 minutos de exposição à solução aquosa com ORP ou após cerca de 3 horas de exposição pode ser submetido à transcrição reversa e amplificação (RT-PCR) do gene constitutivo da GAPDH humana (Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) e resulta em uma forte banda de GAPDH na eletroforese em gel dos produtos de RT-PCR. Ao contrário, células tratadas com HP por um período similar mostram degradação de RNA significativa e pouco, ou nenhum, produto GAPDH por RT-PCR.

De acordo com a presente invenção, uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP pode ser

administrada por qualquer método adequado. Métodos adequados podem incluir, por exemplo, o contato de um ou mais tecidos com uma quantidade da solução aquosa com ORP eficaz para tratar ou evitar peritonite, reduzir o sangramento capilar, evitar o desenvolvimento de abscessos peritoneais e adesões, ou evitar a progressão até a SIRS e falência múltipla dos órgãos. Um método de administração exemplar inclui a liberação de uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP ao espaço peritoneal, por exemplo, na fase intra-operatória, sob controle laparoscópico, ou por via transabdominal.

A quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP pode ser liberada ao espaço peritoneal, por exemplo, por gravidade (por exemplo, derramando ou dispensando a solução aquosa com ORP de um recipiente ou dispositivo) ou pela liberação da solução aquosa com ORP sob pressão (por exemplo, por pulverização). Podem ser realizados um ou mais enxágües do peritônio, ou seja, o peritônio pode ser "lavado". A solução aquosa com ORP pode ser retida na cavidade peritoneal por qualquer período de tempo adequado, por exemplo, um período de tempo eficaz para fornecer uma resposta terapêutica, por exemplo, segundos, minutos, horas ou dias e, opcionalmente, removida com a utilização de qualquer método adequado. Métodos de remoção adequados podem incluir, por exemplo, permitir que a solução aquosa com ORP seja absorvida naturalmente em um ou mais tecidos circundantes, absorção com um ou mais materiais absorventes (por exemplo, gaze, esponja, toalha, ou trama), remoção por sucção, e semelhantes, e combinações destes.

Em uma modalidade, o método da presente invenção inclui:

- acesso ao espaço peritoneal em um paciente, por exemplo, que possua ou que esteja em risco de desenvolver peritonite, ou que esteja em risco de desenvolver adesões ou abscessos associados à peritonite;

- liberação ao espaço peritoneal do paciente de um volume da solução aquosa com ORP que seja suficiente para contato do tecido peritoneal com uma quantidade terapêuticamente eficaz desta;

- permitir que a solução aquosa com ORP permaneça no espaço peritoneal por um período de tempo suficiente para fornecer um efeito terapêutico;

- opcionalmente, remoção da solução aquosa com ORP do espaço peritoneal; e

- opcionalmente, repetição da lavagem peritoneal.

O espaço peritoneal pode ser acessado por qualquer método adequado, por exemplo, cirurgicamente ou por via transabdominal, através da abertura de uma ferida existente, e semelhantes. Qualquer volume adequado da solução aquosa com ORP pode ser liberado ao espaço peritoneal, por exemplo, de cerca de 0,01 a cerca de 10 litros (por exemplo, de cerca de 0,1 a cerca de 10 litros, de cerca de 0,2 a cerca de 10 litros, de cerca de 0,5 a cerca de 10 litros, ou de cerca de 1 a cerca de 10 litros). A solução aquosa com ORP pode opcionalmente ser removida e, se desejado, as lavagens repetidas, por exemplo, como aqui descrito. As lavagens podem ser realizadas isoladamente ou em combinação com terapias adicionais, por exemplo, em combinação com um ou mais de soro fisiológico estéril

lavagens, terapia antibiótica, e combinações destes.

A solução aquosa com ORP pode ser administrada parenteralmente, por via endoscópica, através de um cateter de diálise ou diretamente à superfície de qualquer tecido biológico afetado, os quais podem incluir a pele e/ou uma ou mais superfícies mucosas. A administração parenteral pode incluir, por exemplo, a administração da solução aquosa com ORP por via intraperitoneal, por via intramuscular, subcutânea, intravenosa, intra-arterial, intratecal, intravesical, ou em um espaço sinovial. A administração endoscópica da solução aquosa com ORP pode incluir, por exemplo, o uso de broncoscopia, colonoscopia, sigmoidoscopia, histeroscopia, laparoscopia, artroscopia, gastroscopia ou uma abordagem transuretral. A administração da solução aquosa com ORP a uma superfície mucosa pode incluir, por exemplo, administração a uma superfície mucosa esofágica, gástrica, intestinal, peritoneal, uretral, vesicular, vaginal, uterina, da glândula de Falópio, sinovial e nasal, e também pode incluir a administração da solução a uma superfície mucosa oral, traqueal ou brônquica.

A administração parenteral também pode incluir a administração da solução aquosa com ORP por via intraperitoneal, subcutânea ou intramuscular, além da intravenosa, por exemplo, como descrito nas Patentes U.S. N^{os} 5.334.383 e 5.622.848 (aqui incorporadas por referência), que descrevem métodos de tratamento de miocardite viral, esclerose múltipla e AIDS por meio da administração intravenosa de soluções de água com ORP.

De acordo com a invenção, a solução aquosa com ORP

usada pode ser administrada topicamente, por exemplo, como um spray, névoa, aerossol ou vapor, por qualquer método adequado, por exemplo, por aerossolização, nebulização ou atomização, por exemplo, na forma de gotículas que possuem
5 um diâmetro na faixa de cerca de 0,1 micron a cerca de 100 microns, preferivelmente de cerca de 1 micron a cerca de 10 microns. Métodos e dispositivos úteis para aerossolização, nebulização e atomização são bem conhecidos na técnica. Nebulizadores médicos, por exemplo, têm sido usados para
10 liberar uma dose metrificada de um líquido fisiologicamente ativo em um jato de gás inspiratório, por exemplo, para inalação por um receptor. Veja, por exemplo, a Patente U.S. N° 6.598.602 (aqui incorporada por referência). Os nebulizadores médicos podem operar para a geração de
15 gotículas líquidas, que formam um aerossol, por exemplo, com um gás inspiratório. Em outras circunstâncias, nebulizadores médicos têm sido usados para injetar gotículas de água em um jato de gás inspiratório para o fornecimento de gás com um teor de umidade adequado a um
20 receptor, o que é particularmente útil quando o jato de gás inspiratório for fornecido por um auxílio mecânico de respiração como, por exemplo, um respirador, um ventilador ou sistema de liberação de anestésicos.

A Patente U.S. N° 5.312.281 (aqui incorporada por
25 referência) descreve um nebulizador de onda ultra-sônica que atomiza água ou líquido em baixa temperatura e supostamente pode ajustar o tamanho da névoa. Além disso, a Patente U.S. N° 5.287.847 (aqui incorporada por referência) descreve um aparelho pneumático de nebulização com taxas de
30 fluxo e volumes de saída escalonáveis para a liberação de

um aerossol medicinal a neonatos, crianças e adultos. Além disso, a Patente U.S. N° 5.063.922 (aqui incorporada por referência) descreve um atomizador ultra-sônico. A solução aquosa com ORP também pode ser dispensada em forma de
5 aerossol como parte de um sistema de inalação para o tratamento de infecções nos pulmões e/ou nas passagens aéreas ou para a cicatrização de feridas nessas partes do corpo.

Para aplicações em maior escala, pode ser usado um
10 dispositivo adequado para dispersar uma solução aquosa com ORP no ar, incluindo, sem limitação, umidificadores, nebulizadores, pulverizadores, vaporizadores, atomizadores, sprays de água e outros dispositivos de spray. Esses dispositivos permitem a dispersão da solução aquosa com ORP
15 de forma contínua. Pode ser empregado um ejetor que mistura diretamente a água em um bocal. Uma solução aquosa com ORP pode ser convertida em vapor, por exemplo, vapor de baixa pressão, e liberada no jato de ar. Vários tipos de umidificadores podem ser usados como, por exemplo,
20 umidificadores ultra-sônicos, umidificadores ou vaporizadores de jato, e umidificadores evaporativos. O dispositivo específico usado para dispersar uma solução aquosa com ORP pode ser incorporado em um sistema de ventilação para fornecer a aplicação disseminada da solução
25 aquosa com ORP por toda a casa ou instalação de atendimento médico (por exemplo, hospital, casa de repouso etc.).

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção também pode ser usada como a solução de irrigação para dispositivos de pressão negativa que são
30 usados para reduzir edema e aumentar o fluxo sanguíneo.

Dispositivos de pressão negativa adequados podem incluir, por exemplo, um ou mais dispositivos de fechamento de feridas a vácuo como, por exemplo, os dispositivos V.A.C.(R) e Instill™ vendidos nos Estados Unidos por Kinetic Concepts, Inc. Acredita-se que a solução aquosa com ORP possa agir sinergicamente com o dispositivo ao controlar o processo inflamatório-alérgico, enquanto reduz a carga microbiana. Dessa forma, o dispositivo pode ser aplicado para abertura da cavidade abdominal com irrigação intermitente ou contínua para tratar ou evitar peritonite (ou abscessos ou adesões) de acordo com a presente invenção.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção também pode ser usada como a solução de irrigação para dispositivos de hidrocirurgia que são usados para o desbridamento de feridas. Dispositivos de hidrocirurgia adequados podem incluir, por exemplo, o dispositivo VersaJet vendido nos Estados Unidos por Smith and Nephew, Debritom na Europa por Medaxis, JetOx nos Estados Unidos e na Europa por DeRoyal ou PulsaVac na Itália. Acredita-se que a solução aquosa com ORP possa atuar sinergicamente com o dispositivo por redução da carga microbiana na ferida e evitando a formação de névoas infecciosas durante o procedimento de desbridamento. Dessa forma, o dispositivo pode ser usado para o desbridamento das feridas com irrigação contínua, para reduzir o processo de infecção e evitar a formação de névoas infecciosas de acordo com a presente invenção.

De acordo com a presente invenção, uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP pode ser

administrada isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, de modo a tratar ou evitar peritonite ou a fim de evitar a formação de adesões ou abscessos e para tratar ou evitar SIRS ou falência múltipla dos órgãos a ela associados. Por exemplo, a solução aquosa com ORP pode ser administrada em conjunto com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, por exemplo, um ou mais compostos selecionados do grupo que consiste em agentes anti-infecciosos (por exemplo, agentes antibacterianos (como, por exemplo, antibióticos), agentes antifúngicos e agentes antivirais), agentes anti-inflamatórios, proteínas ou anticorpos recombinantes, um ou mais fármacos sintéticos, e combinações destes. A administração desses agentes terapêuticos em conjunto com a solução aquosa com ORP pode incluir a administração de um ou mais desses agentes adicionais, por exemplo, antes, durante (por exemplo, contemporaneamente, por co-administração ou em combinação com), ou depois da administração da solução aquosa com ORP.

Antibióticos adequados podem incluir, sem limitação, penicilina, cefalosporinas ou outras β -lactamas, macrolidas (por exemplo, eritromicina, 6-O-metileritromicina e azitromicina), fluorquinolonas, sulfonamidas, tetraciclinas, aminoglicosídeos, clindamicina, quinolonas, metronidazol, vancomicina, cloranfenicol, derivados eficazes em termos antibacterianos destes, e combinações destes. Agentes anti-infecciosos adequados também podem incluir agentes antifúngicos como, por exemplo, anfotericina B, fluconazol, flucitosina, cetoconazol, miconazol, derivados destes, e combinações destes. Agentes

antiinflamatórios adequados podem incluir, por exemplo, um ou mais fármacos antiinflamatórios, por exemplo, um ou mais esteróides antiinflamatórios ou um ou mais fármacos antiinflamatórios não esteróides (NSAIDs). Fármacos antiinflamatórios exemplares podem incluir, por exemplo, 5 ciclofilinas, proteínas de ligação FK, anticorpos anti-citocina (por exemplo, anti-TNF), esteróides e NSAIDs.

De acordo com a invenção, a solução aquosa com ORP pode ser administrada isoladamente ou em combinação com um ou mais veículo farmacologicamente aceitáveis, que podem 10 incluir, por exemplo, veículos, adjuvantes, excipientes, diluentes, combinações destes, e semelhantes. Tais veículos são preferivelmente compatíveis com uma ou mais das espécies químicas que existem na solução aquosa com ORP. 15 Aqueles habilitados na técnica podem determinar facilmente a formulação e o método apropriados para a administração da solução aquosa com ORP usada de acordo com a presente invenção. Por exemplo, uma formulação baseada em gel contendo a solução aquosa com ORP pode ser usada para 20 manter a hidratação da cavidade peritoneal, ao mesmo tempo em que fornece uma barreira contra microorganismos. Formulações em gel adequadas são descritas, por exemplo, na Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº 2005/0142157 (aqui incorporada por referência). Quaisquer ajustes necessários 25 na dose podem ser feitos rapidamente por aqueles habilitados na técnica para atender à natureza e/ou gravidade da condição tratada, à luz de um ou mais fatores clinicamente relevantes como, por exemplo, efeitos colaterais, alterações na condição geral do paciente, e 30 semelhantes.

Por exemplo, a solução aquosa com ORP pode ser formulada por combinação ou diluição da solução aquosa com ORP com cerca de 25% (p/p ou vol/vol) de um veículo adequado, cerca de 50% (p/p ou vol/vol) de um veículo adequado, cerca de 75% (p/p ou vol/vol) de um veículo adequado, cerca de 90% (p/p ou vol/vol) de um veículo adequado, cerca de 95% (p/p ou vol/vol) de um veículo adequado, ou até mesmo com cerca de 99% (p/p ou vol/vol) ou mais de um veículo adequado. Veículos adequados podem incluir, por exemplo, água (por exemplo, água destilada, água estéril, por exemplo, água estéril para injeção, soro fisiológico estéril, e semelhantes). Veículos adequados também podem incluir um ou mais veículos descritos no Pedido de Patente U.S. N° 10/916.278 (aqui incorporado por referência). Formulações exemplares podem incluir, por exemplo, soluções nas quais a solução aquosa com ORP é diluída com água estéril ou soro fisiológico estéril, em que a solução aquosa com ORP é diluída por cerca de 25% (vol/vol), por cerca de 50% (vol/vol), por cerca de 75% (vol/vol), por cerca de 90% (vol/vol), por cerca de 95% (vol/vol), ou por 99% (vol/vol) ou mais, dependendo da aplicação terapêutica e/ou de quaisquer outros fatores terapeuticamente relevantes.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ainda ser formulada em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, por exemplo, um ou mais compostos ativos selecionados do grupo que consiste em agentes antibacterianos (por exemplo, antibióticos), agentes antivirais, agentes antiinflamatórios, e combinações destes, como aqui descrito.

A quantidade terapeuticamente eficaz administrada ao paciente, por exemplo, um mamífero, particularmente um ser humano, no contexto da presente invenção, deve ser suficiente para produzir uma resposta terapêutica ou profilática no paciente ao longo de um intervalo de tempo razoável. A dose pode ser facilmente determinada com o uso de métodos que são bem conhecidos na técnica. Aqueles habilitados na técnica reconhecerão que o nível de dosagem específico para qualquer paciente em particular dependerá de diversos fatores terapeuticamente relevantes em potencial. Por exemplo, a dose pode ser determinada com base na potência da solução aquosa com ORP em particular empregada, na gravidade da condição, no peso corporal do paciente, na idade do paciente, na condição física e mental do paciente, saúde geral, sexo, dieta, e semelhantes. O tamanho da dose também pode ser determinado com base na existência, natureza e extensão de quaisquer efeitos colaterais adversos que possam acompanhar a administração da solução aquosa com ORP em particular. É desejável, sempre que possível, manter os efeitos colaterais adversos em um mínimo.

Fatores que podem ser considerados para uma dosagem específica podem incluir, por exemplo, a biodisponibilidade, o perfil metabólico, o tempo de administração, a via de administração, a taxa de excreção, a farmacodinâmica associada a uma solução aquosa com ORP em particular em um paciente em particular, e semelhantes. Outros fatores podem incluir, por exemplo, a potência ou eficácia da solução aquosa com ORP com relação à condição específica a ser tratada, a gravidade dos sintomas

apresentados antes, durante ou depois do período de terapia, e semelhantes. Em alguns casos, o que constitui uma quantidade terapêuticamente eficaz também pode ser determinado, em parte, com a utilização de um ou mais dos
5 ensaios, por exemplo, bioensaios, que são indicadores clinicamente razoáveis da eficácia de uma solução aquosa com ORP em particular para o tratamento ou a prevenção de uma condição em particular.

A solução aquosa com ORP usada de acordo com a presente invenção pode ser administrada, isoladamente ou em
10 combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, a um paciente, por exemplo, um ser humano, por exemplo, para tratar uma condição existente. A solução aquosa com ORP da presente invenção também pode ser administrada
15 profilaticamente, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, a um paciente, por exemplo, um ser humano, que esteja em risco de desenvolver a condição, por exemplo, por ter sido exposto a um ou mais agentes causadores associados à condição. Por exemplo, a
20 solução aquosa com ORP da invenção pode ser adequadamente administrada a um paciente que foi exposto a um ou mais microorganismos que causam inflamação (por exemplo, infecções, vírus, bactérias e/ou fungos) profilaticamente para diminuir a probabilidade ou gravidade da peritonite,
25 adesões, abscessos, SIRS, falência múltipla dos órgãos, e mesmo infecção, associada ao microorganismo em um paciente. A solução aquosa com ORP também pode ser usada para irrigar continuamente o campo cirúrgico, incluindo o peritônio, intestino, a parede abdominal, e semelhantes, durante
30 cirurgias muito longas, ou quando tiver que ser aplicada

uma trama ou outra prótese. Com isso, a possibilidade de contaminação ou infecção pode ser reduzida por conta das propriedades desinfetantes da solução aquosa com ORP, na medida em que a irrigação contínua com a solução aquosa com ORP pode ainda ajudar a manter uma hidratação adequada dos tecidos. A frequência e o volume a serem usados sob essas circunstâncias podem ser variáveis, dependendo, por exemplo, da natureza da cirurgia, da condição do paciente etc.

10 Aqueles habilitados na técnica observarão que estão disponíveis métodos adequados de administração da solução aquosa com ORP usada de acordo com a presente invenção e, embora possa ser usada mais de uma via de administração, uma via em particular pode fornecer uma reação mais imediata e mais eficaz do que outra via. A quantidade terapeuticamente eficaz pode ser a dose necessária para se obter um "nível eficaz" da solução aquosa com ORP em um paciente individual. A quantidade terapeuticamente eficaz pode ser definida, por exemplo, como a quantidade necessária que deve ser administrada a um paciente individual para se obter um nível sanguíneo, nível tecidual e/ou nível intracelular da solução aquosa com ORP (ou uma ou mais espécies ativas nela contidas) para evitar ou tratar a condição no paciente.

25 Quando o nível eficaz é usado como um limite final preferido para a dosagem, a dose e a posologia reais podem variar, dependendo, por exemplo, de diferenças entre indivíduos em termos de farmacocinética, distribuição, metabolismo, e semelhantes. O nível eficaz também pode variar quando a solução aquosa com ORP for usada em

30

combinação com um ou mais agentes terapêuticos adicionais, por exemplo, um ou mais agentes antiinfecciosos, um ou mais agentes de "moderação", "modulação" ou "neutralização", por exemplo, como descrito nas Patentes U.S. Nºs 5.334.383 e 5.622.848 (aqui incorporadas por referência), um ou mais agentes antiinflamatórios, e semelhantes.

Um indicador apropriado pode ser usado para determinar e/ou monitorar o nível eficaz. Por exemplo, o nível eficaz pode ser determinado por análise direta (por exemplo, exame físico, química analítica) ou por análise indireta (por exemplo, com indicadores clínicos bioquímicos) de amostras adequadas de pacientes (por exemplo, líquido peritoneal, sangue e/ou tecidos). O nível eficaz também pode ser determinado, por exemplo, por observações diretas ou indiretas como, por exemplo, a concentração de metabólitos urinários, mudanças em marcadores associados à condição (por exemplo, contagem viral no caso de uma infecção viral), análise da histopatologia e imunoquímica, diminuições dos sintomas associados à condição, e semelhantes.

Soluções de água com ORP convencionais possuem um prazo de validade extremamente limitado, normalmente apenas poucas horas. Em consequência dessa vida útil curta, o uso de soluções de água com ORP convencionais exige que a produção ocorra próximo do ponto de uso. Do ponto de vista da praticidade, isso significa que a instalação predial, por exemplo, um local de atendimento médico, por exemplo, um hospital, tem que adquirir, abrigar e manter o equipamento necessário para produzir solução aquosa com ORP convencional. Adicionalmente, as técnicas convencionais de

fabricação não foram capazes de produzir quantidades suficientes em escala comercial para permitir o uso disseminado, por exemplo, como um agente desinfetante geral para instalações para atendimento médico.

5 Diferentemente das soluções de água com ORP convencionais, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é estável por pelo menos cerca de vinte e quatro após sua preparação. Além disso, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é, em
10 geral, ambientalmente segura e, dessa forma, evita a necessidade de procedimentos de descarte dispendiosos.

Preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é estável por pelo menos cerca de uma semana (por exemplo, uma semana, duas semanas, três
15 semanas, quatro semanas etc.) e, mais preferivelmente, pelo menos cerca de dois meses. Ainda mais preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é estável por pelo menos cerca de seis meses. Ainda mais preferivelmente, a solução aquosa com ORP
20 administrada de acordo com a invenção é estável por pelo menos cerca de um ano e, principalmente, é estável por mais de cerca de um ano, por exemplo, pelo menos cerca de dois anos ou pelo menos cerca de três anos.

A estabilidade pode ser medida com base na habilidade
25 da solução aquosa com ORP para permanecer adequada por um ou mais usos, por exemplo, para inibir a degranulação de mastócitos, inibir a secreção de citocina, descontaminação, desinfecção, esterilização, limpeza antimicrobiana e limpeza de feridas, por um período de tempo especificado
30 após sua preparação sob condições normais de estocagem (por

exemplo, temperatura ambiente). A estabilidade da solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também pode ser medida por estocagem sob condições aceleradas, por exemplo, de cerca de 30°C a cerca de 60°C, em que a solução

5 aquosa com ORP preferivelmente é estável por até cerca de 90 dias e, mais preferivelmente, por até cerca de 180 dias.

A estabilidade também pode ser medida com base na concentração ao longo de tempo de uma ou mais espécies (ou precursores destas) presentes em solução durante o prazo de

10 validade da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, as concentrações de uma ou mais espécies, por exemplo, cloro livre, ácido hipocloroso e uma ou mais espécies de água superoxidada, são mantidas em cerca de 70% ou mais de sua

15 concentração inicial por pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP. Mais preferivelmente, a concentração de uma ou mais dessas espécies é mantida em cerca de 80% ou mais de sua

20 concentração inicial por pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP. Ainda mais preferivelmente, a concentração de uma ou mais dessas espécies é mantida em cerca de 90% ou mais e, principalmente, é mantida em cerca de 95% ou mais, de sua

concentração inicial por pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP.

25 A estabilidade também pode ser determinada com base na redução na quantidade de organismos presentes em uma amostra após exposição à solução aquosa com ORP. A medida da redução da concentração de organismo pode ser feita com base em qualquer organismo adequado, incluindo, por

30 exemplo, bactérias, fungos, leveduras ou vírus. Organismos

adequados podem incluir, por exemplo, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, e *Bacillus athrophaeus* (anteriormente *B. subtilis*).

5 A estabilidade também pode ser determinada com base na redução na quantidade de endotoxinas (por exemplo, lipopolissacarídeos), fatores de crescimento, citocinas e outras proteínas e lipídeos presentes em uma amostra após exposição à solução aquosa com ORP.

10 A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode funcionar como um desinfetante de nível baixo capaz de uma redução de log quatro (10^4) na concentração de microorganismos vivos, e também pode funcionar como um desinfetante de nível elevado capaz de uma redução de log seis (10^6) na concentração de microorganismos vivos.

15 Preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é capaz de gerar uma redução de pelo menos cerca de log quatro (10^4) na concentração total de organismo, após exposição por um minuto, quando medida pelo menos cerca de dois meses após a preparação da solução.

20 Mais preferivelmente, a solução aquosa com ORP é capaz de uma redução de 10^4 - 10^6 da concentração de organismo, quando medida pelo menos cerca de seis meses após a preparação da solução. Ainda mais preferivelmente, a solução aquosa com ORP é capaz de uma redução de 10^4 - 10^6 da concentração de

25 organismo, quando medida pelo menos cerca de um ano após preparação da solução aquosa com ORP e, principalmente, quando medida mais de cerca de um ano, por exemplo, pelo menos cerca de dois anos ou pelo menos cerca de três anos, após preparação da solução aquosa com ORP.

30 Por exemplo, a solução aquosa com ORP é capaz de uma

redução de pelo menos cerca de cinco log (10^5) na
concentração de uma amostra de microorganismos vivos
selecionados do grupo que consiste em *Pseudomonas*
aeruginosa, *Escherichia coli*, *Enterococcus hirae*,
5 *Acinetobacter baumannii*, espécies de *Acinetobacter*,
Bacteroides fragilis, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus*
faecalis, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina
(VRE, MDR), *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*,
Klebsiella pneumoniae, *Micrococcus luteus*, *Proteus*
10 *mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*,
Staphylococcus epidermidis, *Staphylococcus haemolyticus*,
Staphylococcus hominis, *Staphylococcus saprophyticus*,
Streptococcus pneumoniae, *Streptococcus pyogenes*, *Candida*
albicans e *Candida tropicalis*, em até 30 segundos de
15 exposição, quando medida pelo menos dois meses após
preparação da solução aquosa com ORP.

Em uma modalidade, a solução aquosa com ORP
administrada de acordo com a invenção pode reduzir uma
amostra de microorganismos vivos incluindo, sem limitação,
20 *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*
aureus e *Candida albicans*, a partir de uma concentração
inicial de entre cerca de 1×10^6 e cerca de 1×10^8
organismos/ml até uma concentração final de cerca de zero
organismo/ml em um intervalo de cerca de um minuto de
25 exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses
após preparação da solução aquosa com ORP. Isso corresponde
a uma redução de cerca de log seis (10^6) a uma redução de
cerca de log oito (10^8) na concentração de organismo.
Preferivelmente, a solução aquosa com ORP é capaz de obter
30 uma redução de 10^6 - 10^8 de organismos *Escherichia coli*,

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans*, quando medida pelo menos cerca de seis meses após preparação e, mais preferivelmente, quando medida pelo menos cerca de um ano após preparação.

5 Alternativamente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção pode produzir uma redução de cerca de log seis (10^6) na concentração de uma suspensão de esporos de *Bacillus athrophaeus* em um intervalo de até cinco minutos de
10 exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode obter uma redução de cerca de 10^6 na concentração de esporos de *Bacillus athrophaeus*, quando
15 medida pelo menos cerca de seis meses após preparação e, mais preferivelmente, quando medida pelo menos cerca de um ano após preparação.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também pode produzir uma redução de cerca de log
20 quatro (10^4) na concentração de uma suspensão de esporos de *Bacillus athrophaeus* em um intervalo de até cerca de trinta (30) segundos de exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, a solução aquosa com ORP
25 pode obter essa redução na concentração de esporos de *Bacillus athrophaeus*, quando medida pelo menos cerca de seis meses após preparação e, mais preferivelmente, quando medida pelo menos cerca de um ano após preparação.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a
30 invenção pode ainda produzir uma redução de cerca de log

seis (10^6) na concentração de esporos fúngicos como, por exemplo, esporos de *Aspergillus niger*, em um intervalo de até cerca de cinco a cerca de dez minutos de exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses após
5 preparação da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, a solução aquosa com ORP pode obter uma redução de 10^6 na concentração de esporos fúngicos, quando medida pelo menos cerca de seis meses após preparação e, mais preferivelmente, quando medida pelo menos cerca de um ano
10 após a preparação.

Alternativamente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente pode gerar uma redução de pelo menos cerca de 10^6 na concentração de uma amostra de microorganismos vivos
15 selecionados do grupo que consiste em *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *C. perfingens*, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, estreptococos, enterococos e *Candida albicans*, e combinações destes, em um intervalo de cerca de um minuto
20 de exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses após a preparação da solução.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ainda produzir uma redução de mais de $\log 3$ (10^3) na concentração de vírus como, por exemplo, vírus da
25 imunodeficiência humana (HIV) e adenovírus, em um intervalo de até cerca de cinco a cerca de dez minutos de exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, a solução aquosa com ORP pode obter uma redução $> 10^3$ na
30 concentração de vírus, quando medida pelo menos cerca de

seis meses após preparação e, mais preferivelmente, quando medida pelo menos cerca de um ano após preparação.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ainda inibir completamente o crescimento de *Mycobacterium bovis* em um intervalo de até cinco minutos de exposição, quando medida pelo menos cerca de dois meses após preparação da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, a solução aquosa com ORP pode obter a inibição total na concentração de *Mycobacterium*, quando medida pelo menos
5
10
cerca de seis meses após preparação e, mais preferivelmente, quando medida pelo menos cerca de um ano após preparação.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser ácida, neutra ou básica e, geralmente, pode ter um pH de cerca de 1 a cerca de 14. Dentro dessa faixa de pH, a solução aquosa com ORP pode ser aplicada com segurança em quantidades adequadas, por exemplo, às superfícies, sem danificar as superfícies ou prejudicar objetos como, por exemplo, a pele humana, que entram em
15
20
contato com uma solução aquosa com ORP. Preferivelmente, o pH da solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é de cerca de 3 a cerca de 8. Mais preferivelmente, o pH da solução aquosa com ORP é de cerca de 6,4 a cerca de 7,8 e, ainda mais preferivelmente, o pH é
25
de cerca de 7,4 a cerca de 7,6.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ter um potencial de oxirredução de cerca de -1.000 milivolts (mV) a cerca de +1150 milivolts (mV). Esse potencial é uma medida da tendência (ou seja, o potencial)
30
de uma solução para aceitar ou transferir elétrons que são

percebidos por um eletrodo metálico, comparado com um eletrodo de referência na mesma solução. Esse potencial pode ser medido por técnicas padronizadas que incluem, por exemplo, a medida do potencial elétrico em milivolts da
5 solução aquosa com ORP em relação a uma referência-padrão como, por exemplo, um eletrodo de prata/cloreto de prata.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção preferivelmente possui um potencial de cerca de -400 mV a cerca de +1.300 mV. Mais preferivelmente, a
10 solução aquosa com ORP possui um potencial de cerca de 0 mV a cerca de +1.250 mV e, ainda mais preferivelmente, de cerca de +500 mV a cerca de +1.250 mV. Ainda mais preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção possui um potencial de cerca
15 de +800 mV a cerca de +1.100 mV e, principalmente, de cerca de +800 mV a cerca de +1.000 mV.

Várias espécies iônicas e outras espécies podem estar presentes na solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção. Por exemplo, a solução aquosa com ORP pode
20 conter cloro (por exemplo, cloro livre e cloro ligado), uma ou mais espécies adicionais de água superoxidada (por exemplo, uma ou mais espécies de oxigênio, por exemplo, oxigênio dissolvido) e, opcionalmente, ozônio e peróxidos (por exemplo, peróxido de hidrogênio). Acredita-se que a
25 presença de uma ou mais dessas espécies contribua pelo menos para a habilidade desinfetante da solução aquosa com ORP para matar diversos microorganismos, por exemplo, bactérias e fungos, além de vírus. Sem se fixar a nenhuma teoria específica, acredita-se que uma ou mais dessas
30 espécies também possam contribuir para a eficácia da

solução aquosa com ORP no tratamento ou na prevenção de peritonite e/ou na prevenção de hemorragia e da formação de adesões ou abscesso a ela associados. A inibição da síntese e secreção de citocinas poderia ainda ser outro efeito da
5 solução aquosa com ORP.

Cloro livre tipicamente inclui, sem limitação, ácido hipocloroso (HClO), íons hipoclorito (ClO^-) e hipoclorito de sódio (NaOCl), e precursores destes. A proporção de ácido hipocloroso para íons hipoclorito depende do pH. Em
10 um pH de 7,4, os níveis de ácido hipocloroso são tipicamente de cerca de 25 ppm a cerca de 75 ppm. A temperatura também tem um impacto sobre a proporção do componente de cloro livre.

Cloro ligado tipicamente inclui cloro em combinação química com, por exemplo, amônia ou aminas orgânicas (por exemplo, cloraminas). Cloro ligado está presente preferivelmente em uma quantidade de até cerca de 20 ppm.

Uma ou mais espécies de cloro, uma ou mais espécies adicionais de água superoxidada (por exemplo, uma ou mais espécies de oxigênio) e oxigênio podem estar presentes na
20 solução aquosa com ORP em qualquer quantidade adequada. Os níveis desses componentes podem ser medidos por qualquer método adequado, incluindo métodos conhecidos na técnica.

O teor total de cloro, que inclui tanto cloro livre quanto, opcionalmente, cloro ligado, pode ser de cerca de
25 10 partes por milhão (ppm) a cerca de 400 ppm, por exemplo, de cerca de 10 partes ppm a cerca de 200 ppm, de cerca de 20 ppm a cerca de 150 ppm, de cerca de 30 ppm a cerca de 100 ppm, de cerca de 30 a cerca de 80 ppm, ou, por exemplo,
30 de cerca de 50 ppm a cerca de 200 ppm ou de cerca de 80 ppm

a cerca de 150 ppm.

O teor de cloro pode ser medido por métodos conhecidos na técnica como, por exemplo, o método do colorímetro de DPD (Lamotte Company, Chestertown, Maryland) ou outros
5 métodos conhecidos como, por exemplo, métodos estabelecidos pela "Environmental Protection Agency". No método do colorímetro de DPD, é formada uma cor amarela pela reação de cloro livre com N,N-dietil-p-fenilenediamina (DPD), e a intensidade é medida com um calorímetro calibrado que
10 fornece o resultado em partes por milhão. A adição adicional de iodeto de potássio dá à solução uma cor rosa para fornecer o valor do cloro total. A quantidade de cloro ligado presente é então determinada por subtração do cloro livre do cloro total.

15 A quantidade total de espécies químicas oxidantes presente na solução aquosa com ORP está preferivelmente na faixa de cerca de 2 milimolares (mM), e pode incluir as espécies de cloro mencionadas anteriormente, espécies de oxigênio e espécies adicionais, incluindo aquelas que são
20 de difícil medição como, por exemplo, Cl^- , ClO_3 , Cl_2^- e ClO_x .

Em uma modalidade, a solução aquosa com ORP da invenção compreende uma ou mais espécies de cloro e uma ou mais espécies adicionais de água superoxidada (por exemplo,
25 uma ou mais espécies oxidantes adicionais como, por exemplo, oxigênio). Preferivelmente, as espécies de cloro estão presentes como uma espécie de cloro livre. A espécie de cloro livre pode incluir uma ou mais espécies selecionadas do grupo que consiste em ácido hipocloroso
30 (HOCl), íons hipoclorito (OCl^-), hipoclorito de sódio

(NaOCl⁻), íon cloreto (Cl⁻) e, opcionalmente, gás cloro dissolvido (Cl₂), precursores destes e misturas destes.

A quantidade total de espécie de cloro livre é preferivelmente de cerca de 10 ppm a cerca de 400 ppm, mais
5 preferivelmente, de cerca de 50 ppm a cerca de 200 ppm e, principalmente, de cerca de 50 ppm a cerca de 80 ppm. A quantidade de ácido hipocloroso é preferivelmente de cerca de 15 ppm a cerca de 35 ppm. A quantidade de hipoclorito de sódio está preferivelmente na faixa de cerca de 25 ppm a
10 cerca de 50 ppm. Os níveis de dióxido de cloro estão preferivelmente abaixo de cerca de 5 ppm.

Em uma modalidade, a solução aquosa com ORP inclui uma ou mais espécies de cloro ou um ou mais precursores destas, uma ou mais espécies adicionais de água superoxidada (por
15 exemplo, uma ou mais espécies de oxigênio) e, opcionalmente, peróxido de hidrogênio, e é estável por pelo menos cerca de 24 horas, preferivelmente por pelo menos cerca de uma semana, mais preferivelmente, por pelo menos cerca de dois meses e, ainda mais preferivelmente, por pelo
20 menos cerca de seis meses após sua preparação. Ainda mais preferivelmente, essa solução aquosa com ORP é estável por pelo menos cerca de um ano e, principalmente, por mais de cerca de um ano, por exemplo, pelo menos cerca de dois anos ou pelo menos cerca de três anos.

25 Prefere-se também que a solução aquosa com ORP inclua uma ou mais espécies de cloro (por exemplo, ácido hipocloroso e hipoclorito de sódio) ou um ou mais precursores destes e uma ou mais espécies oxidantes adicionais (por exemplo, oxigênio) ou um ou mais
30 precursores destes, e possua um pH de cerca de 6 a cerca de

8, mais preferivelmente, de cerca de 6,2 a cerca de 7,8 e, principalmente, de cerca de 7,4 a cerca de 7,6. Uma solução aquosa com ORP exemplar administrada de acordo com a presente invenção pode compreender, por exemplo, de cerca
5 de 15 ppm a cerca de 35 ppm de ácido hipocloroso, de cerca de 25 ppm a cerca de 50 ppm de hipoclorito de sódio, de cerca de 1 ppm a cerca de 4 ppm de uma ou mais espécies adicionais de água superoxidada, e um pH de cerca de 6,2 a cerca de 7,8, e pode ser estável por pelo menos cerca de
10 uma semana, por exemplo, pelo menos cerca de dois meses, pelo menos cerca de seis meses, pelo menos cerca de um ano, ou mais do que cerca de um ano, por exemplo, pelo menos cerca de dois anos ou pelo menos cerca de três anos.

Embora sem limitar de forma alguma a presente
15 invenção, acredita-se que o controle do pH e de outras variáveis (por exemplo, salinidade) possa fornecer soluções de água com ORP estáveis, que contêm um ou mais espécies de cloro ou precursores destas como, por exemplo, ácido hipocloroso e íons hipoclorito, e uma ou mais espécies de
20 água superoxidada (por exemplo, oxigênio).

As soluções de água com ORP administradas de acordo com a invenção preferivelmente compreendem uma ou mais espécies de água oxidada que podem gerar radicais livres (como, por exemplo, radicais hidroxila) ao serem expostas
25 ao ferro. A água com ORP pode opcionalmente incluir um ou mais compostos químicos gerados durante a produção desta como, por exemplo, hidróxido de sódio (NaOH), dióxido de cloro (ClO₂), peróxidos (por exemplo, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), e ozônio (O₃), embora tenha sido relatado
30 que hidróxido de sódio, dióxido de cloro, peróxido de

hidrogênio e ozônio possam reagir com hipoclorito resultando no seu consumo e na produção de outras espécies químicas.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção pode ser produzida por um processo de oxirredução, por exemplo, por um processo eletrolítico ou reação redox, em que a energia elétrica é usada para produzir uma ou mais alterações químicas em uma solução aquosa. Processos exemplares para a preparação de soluções de água com ORP adequadas são descritos, por exemplo, nas Publicações de Pedidos de Patentes U.S. N^{os} US 2005/0139808 e US 2005/0142157 (aqui incorporadas por referência).

No processo eletrolítico, a energia elétrica é introduzida e transportada através da água pela condução de carga elétrica de um ponto a outro na forma de uma corrente elétrica. Para que a corrente elétrica surja e subsista, deve haver transportadores de carga na água, e deve haver uma força que faça com que os transportadores se movam. Os transportadores de carga podem ser elétrons, como no caso de metal e semicondutores, ou podem ser íons positivos e negativos, no caso de soluções. Uma reação de redução ocorre no catodo, enquanto uma reação de oxidação ocorre no anodo. Pelo menos algumas das reações redutoras e oxidativas que supostamente ocorrem são descritas no Pedido Internacional WO 03/048421 A1.

Como aqui usada, água produzida em um anodo é denominada água oxidada, e água produzida em um catodo é denominada água reduzida. Água oxidada tipicamente contém espécies oxidadas produzidas pela reação eletrolítica, enquanto água reduzida tipicamente contém espécies

reduzidas pela reação. Água oxidada geralmente possui um pH baixo, tipicamente de cerca de 1 a cerca de 6,8. A água oxidada preferivelmente contém cloro em várias formas incluindo, por exemplo, gás cloro, íons cloreto, ácido clorídrico e/ou ácido hipocloroso, ou um ou mais precursores destes. Oxigênio em várias formas também está preferivelmente presente, incluindo, por exemplo, gás oxigênio e, possivelmente, uma ou mais espécies formadas durante a produção (por exemplo, peróxidos e/ou ozônio), ou um ou mais precursores destas. Água reduzida geralmente possui um pH elevado, tipicamente de cerca de 7,2 a cerca de 11. Água reduzida pode conter gás hidrogênio, radicais hidroxila e/ou íons sódio.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode incluir uma mistura de água oxidada (por exemplo, água produzida na câmara anódica de uma célula eletrolítica) e água reduzida (por exemplo, água produzida na câmara catódica de uma célula de eletrólise). Preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção contém água reduzida, por exemplo, em uma quantidade de cerca de 10% por volume a cerca de 90% por volume da solução. Mais preferivelmente, água reduzida está presente na solução aquosa com ORP em uma quantidade de cerca de 10% por volume a cerca de 50% por volume e, ainda mais preferivelmente, de cerca de 20% por volume a cerca de 40% por volume da solução, por exemplo, de cerca de 20% por volume a cerca de 30% por volume da solução. Adicionalmente, a água oxidada pode estar presente na solução aquosa com ORP, por exemplo, em uma quantidade de cerca de 50% por volume a cerca de 90%

por volume da solução. Soluções de água com ORP exemplares podem conter de cerca de 10% por volume a cerca de 50% por volume de água reduzida e de cerca de 50% por volume a cerca de 90% por volume de água oxidada. A água oxidada e a
5 água reduzida podem ser produzidas com a utilização da célula de eletrólise de três câmaras mostrada na FIG. 1.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção é produzida preferivelmente com o uso de pelo menos uma célula de eletrólise que compreende uma câmara de
10 anódica, uma câmara catódica e uma câmara de solução salina localizada entre as câmaras anódica e catódica, em que pelo menos um pouco da água oxidada e da água reduzida é combinado, a fim de que a solução aquosa com ORP compreenda
15 água oxidada e água reduzida. Um diagrama de uma célula de eletrólise de três câmaras exemplar que pode ser usada na preparação de uma solução aquosa com ORP exemplar é mostrado na FIG. 2.

A célula de eletrólise 100 possui uma câmara anódica 102, uma câmara catódica 104 e uma câmara de solução salina
20 106. A câmara de solução salina está localizada entre a câmara anódica 102 e a câmara catódica 104. A câmara anódica 102 possui um local de entrada 108 e um local de saída 110 para permitir o fluxo de água através da câmara anódica 102. A câmara catódica 104 similarmente possui um
25 local de entrada 112 e um local de saída 114 para permitir o fluxo de água através da câmara catódica 104. A câmara de solução salina 106 possui um local de entrada 116 e um local de saída 118. A célula de eletrólise 100 preferivelmente inclui uma caixa para manter todos os
30 componentes juntos.

A câmara anódica 102 é separada da câmara de solução salina por um eletrodo anódico 120 e uma membrana de troca iônica aniônica 122. O eletrodo anódico 120 pode ser posicionado adjacente à câmara anódica 102, com a membrana 5 122 localizada entre o eletrodo anódico 120 e a câmara de solução salina 106. Alternativamente, a membrana 122 pode ser posicionada adjacente à câmara anódica 102, com o eletrodo anódico 120 localizado entre a membrana 122 e a câmara de solução salina 106.

10 A câmara catódica 104 é separada da câmara de solução salina por um eletrodo catódico 124 e uma membrana de troca iônica catódica 126. O eletrodo catódico 124 pode ser posicionado adjacente à câmara catódica 104, com a membrana 126 localizada entre o eletrodo catódico 124 e a câmara de 15 solução salina 106. Alternativamente, a membrana 126 pode ser posicionada adjacente à câmara catódica 104, com o eletrodo catódico 124 localizado entre a membrana 126 e a câmara de solução salina 106.

Os eletrodos preferivelmente são construídos de metal 20 para permitir que seja aplicado um potencial de voltagem entre a câmara anódica e a câmara de catódica. Os eletrodos metálicos são geralmente planos e possuem dimensões e área de superfície do corte transversal similares àquelas das membranas de troca iônica. Os eletrodos são configurados 25 para expor uma porção substancial da superfície dos componentes de troca iônica à água em suas respectivas câmaras anódica e catódica. Isso permite a migração de espécies iônicas entre a câmara de solução salina, a câmara anódica e a câmara de catódica. Preferivelmente, os 30 eletrodos possuem diversas passagens ou aberturas espaçadas

igualmente através da superfície dos eletrodos.

Uma fonte de potencial elétrico é conectada ao eletrodo anódico 120 e ao eletrodo catódico 124 de modo a induzir uma reação de oxidação na câmara anódica 102 e uma
5 reação de redução na câmara catódica 104.

As membranas de troca iônica 122 e 126 usadas na célula de eletrólise 100 podem ser construídas de qualquer material adequado para permitir a troca de íons entre a câmara de solução salina 106 e a câmara anódica 102 como,
10 por exemplo, íons cloreto (Cl^-), e entre a câmara de solução salina 106 e a câmara catódica 104 como, por exemplo, íons sódio (Na^+). A membrana de troca iônica anódica 122 e a membrana de troca iônica catódica 126 podem ser feitas do mesmo material ou de um material de
15 construção diferente. Preferivelmente, a membrana de troca iônica anódica compreende um polímero fluorado. Polímeros fluorados adequados incluem, por exemplo, polímeros e copolímeros de ácido perfluorsulfônico como, por exemplo, copolímeros de ácido perfluorsulfônico/PTFE e copolímeros
20 de ácido perfluorsulfônico/TFE. A membrana de troca iônica pode ser construída de uma camada única de material ou de múltiplas camadas. Polímeros de membrana de troca iônica adequados podem incluir um ou mais polímeros de membrana de troca iônica comercializados sob o nome comercial Nafion®.

25 A fonte da água para a câmara anódica 102 e para a câmara catódica 104 da célula de eletrólise 100 pode ser qualquer suprimento de água adequado. A água pode ser de um suprimento municipal de água ou, alternativamente, pré-tratada antes de ser utilizada na célula de eletrólise.
30 Preferivelmente, a água é pré-tratada, e é selecionada do

grupo que consiste em água amolecida, água purificada, água destilada e água deionizada. Mais preferivelmente, a fonte de água pré-tratada é água ultrapura obtida com uso de osmose reversa e equipamento de purificação de luz UV.

5 A solução salina aquosa para uso na câmara de água salina 106 pode incluir qualquer solução salina aquosa que contenha espécies iônicas adequadas para a produção da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, a solução salina aquosa é uma solução salina aquosa de cloreto de sódio
10 (NaCl), também comumente denominada soro fisiológico. Outras soluções salinas adequadas podem incluir outros sais de cloreto como, por exemplo, cloreto de potássio, cloreto de amônio e cloreto de magnésio, além de outros sais de halogênios, tais como sais de potássio e bromo. A solução
15 salina pode conter uma mistura de sais.

A solução salina pode ter qualquer concentração adequada. Por exemplo, a solução salina pode ser saturada ou concentrada. Preferivelmente, mas não exclusivamente, a solução salina é uma solução saturada de cloreto de sódio.

20 A FIG. 2 ilustra o que supostamente são várias espécies iônicas produzidas na célula de eletrólise de três câmaras útil em relação à invenção. A célula de eletrólise de três câmaras 200 inclui uma câmara anódica 202, uma câmara catódica 204 e uma câmara de solução salina 206.
25 Mediante aplicação de uma corrente elétrica adequada ao anodo 208 e ao catodo 210, os íons presentes na solução salina seguem através da câmara de solução salina 206, migram através da membrana de troca iônica anódica 212 e da membrana de troca iônica catódica 214 para a água que flui
30 através da câmara anódica 202 e da câmara catódica 204,

respectivamente.

Os íons positivos migram da solução salina 216 que flui através da câmara de solução salina 206 para a água reduzida 218 que flui através da câmara catódica 204. Os
5 íons negativos migram da solução salina 216 que flui através da câmara de solução salina 206 para a água oxidada 220 que flui através da câmara anódica 202.

Preferivelmente, a solução salina 216 é cloreto de sódio aquoso (NaCl), que contém tanto íons sódio (Na⁺)
10 quanto íons cloreto (Cl⁻). Os íons Na⁺ positivos migram da solução salina 216 para a água reduzida 218. Os íons Cl⁻ negativos migram da solução salina 216 para a água oxidada 220.

Os íons sódio e os íons cloreto podem passar por uma
15 reação adicional na câmara anódica 202 e na câmara catódica 204. Por exemplo, os íons cloreto podem reagir com vários íons oxigênio e outras espécies (por exemplo, radicais livres contendo oxigênio, O₂, O₃) presentes na água oxidada 220 para a produção de ClO_n⁻ e ClO⁻. Também podem ocorrer
20 outras reações na câmara anódica 202 incluindo a formação de radicais livres de oxigênio, íons hidrogênio (H⁺), oxigênio (por exemplo, como O₂), ozônio (O₃) e peróxidos. Na câmara catódica 204, gás hidrogênio (H₂), hidróxido de sódio (NaOH), íons hidróxido (OH⁻) e outros radicais podem
25 ser formados.

O aparelho para a produção da solução aquosa com ORP também pode ser construído para incluir pelo menos duas células de eletrólise de três câmaras. Cada uma das células eletrolíticas inclui uma câmara de anódica, uma câmara de
30 catódica e uma câmara de solução salina que separa as

câmaras anódica e catódica. O aparelho inclui um tanque de mistura para coleta da água oxidada produzida pelas células eletrolíticas e uma porção da água reduzida produzida por uma ou mais das células eletrolíticas. Preferivelmente, o
5 aparelho ainda inclui um sistema de recirculação de sal para permitir a reciclagem da solução salina fornecida às câmaras de solução salina das células eletrolíticas. Um diagrama de um processo exemplar para a produção de uma solução aquosa com ORP com o uso de duas células de
10 eletrólise é mostrado na FIG. 3.

O processo 300 inclui duas células eletrolíticas de três câmaras, especificamente uma primeira célula eletrolítica 302 e uma segunda célula eletrolítica 304. A água é transferida, bombeada ou de algum outro modo
15 fornecida da fonte de água 305 para a câmara anódica 306 e para a câmara catódica 308 da primeira célula eletrolítica 302 e para a câmara anódica 310 e para a câmara catódica 312 da segunda célula eletrolítica 304. Vantajosamente, esse processo pode produzir de cerca de 1 litro/minuto a
20 cerca de 50 litros/minuto de solução aquosa com ORP. A capacidade de produção pode ser aumentada com a utilização de células eletrolíticas adicionais. Por exemplo, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez ou mais células eletrolíticas de três câmaras podem ser usadas para
25 aumentar o volume da solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção.

A água oxidada produzida na câmara anódica 306 e na câmara anódica 310 é coletada no tanque de mistura 314. Uma porção da água reduzida produzida na câmara catódica 308 e
30 na câmara catódica 312 é coletada no tanque de mistura 314

e combinada com a água oxidada. A porção restante de água reduzida produzida no processo é descartada. A água reduzida pode opcionalmente ser submetida a um separador de gás 316 e/ou separador de gás 318, antes da adição ao tanque de mistura 314. Os separadores de gás removem gases como, por exemplo, gás hidrogênio, que são formados na água reduzida durante o processo de produção.

O tanque de mistura 314 pode opcionalmente ser conectado a uma bomba de recirculação 315 para permitir a mistura homogênea da água oxidada e de uma porção da água reduzida das células de eletrólise 302 e 304. Além disso, o tanque de mistura 314 pode opcionalmente incluir dispositivos adequados para o monitoramento do nível e do pH da solução aquosa com ORP. A solução aquosa com ORP pode ser transferida do tanque de mistura 314 por meio da bomba 317 para aplicação na desinfecção ou esterilização no tanque ou próximo à localização do tanque de mistura. Alternativamente, a solução aquosa com ORP pode ser liberada para um ou mais recipientes adequados, por exemplo, para embarque para um local remoto (por exemplo, depósito, hospital etc.).

O processo 300 ainda inclui um sistema de recirculação de solução salina para fornecer a solução salina à câmara de solução salina 322 da primeira célula eletrolítica 302 e a câmara de solução salina 324 da segunda célula eletrolítica 304. A solução salina é preparada no tanque de sal 320. O sal é transferido por meio da bomba 321 para as câmaras de solução salina 322 e 324. Preferivelmente, a solução salina flui em série, primeiro através da câmara de solução salina 322, seguida pela câmara de solução salina

324. Alternativamente, a solução salina pode ser bombeada para ambas as câmaras de solução salina simultaneamente.

Antes de retornar ao tanque de sal 320, a solução salina pode fluir através de um trocador de calor 326 no tanque de mistura 314 para controlar a temperatura da solução aquosa com ORP, como necessário.

Os íons presentes na solução salina são eliminados ao longo de tempo na primeira célula eletrolítica 302 e na segunda célula eletrolítica 304. Uma fonte de íons adicional pode ser adicionada periodicamente ao tanque de mistura 320 para substituir os íons que são transferidos para a água oxidada e água reduzida. A fonte de íons adicional pode ser usada, por exemplo, para manter um pH constante da solução salina, que pode cair (ou seja, se tornar ácido) ao longo de tempo. A fonte adicional de íons pode ser qualquer composto adequado incluindo, por exemplo, sais como, por exemplo, cloreto de sódio. Preferivelmente, hidróxido de sódio é adicionado ao tanque de mistura 320 para substituir os íons sódio (Nat) que são transferidos para a água oxidada e água reduzida.

Após sua preparação, a solução aquosa com ORP pode ser transferida para um ou mais recipientes adequados, por exemplo, um recipiente lacrado para distribuição e venda para os usuários finais como, por exemplo, instalações de assistência médica incluindo, por exemplo, hospitais, casas de repouso, consultórios médicos, centros de cirurgia ambulatorial, consultórios dentários, e semelhantes. Recipientes adequados podem incluir, por exemplo, um recipiente lacrado que mantém a esterilidade e estabilidade da solução aquosa com ORP contida no recipiente. O

recipiente pode ser construído de qualquer material que seja compatível com a solução aquosa com ORP. Preferivelmente, o recipiente é geralmente não reativo com um ou mais íons ou outras espécies presentes na solução
5 aquosa com ORP.

Preferivelmente, o recipiente é construído de plástico ou vidro. O plástico pode ser rígido a fim de que o recipiente seja capaz de ser armazenado em uma prateleira. Alternativamente, o recipiente pode ser flexível, por
10 exemplo, um recipiente feito de plástico flexível como, por exemplo, uma bolsa flexível. Plásticos adequados podem incluir, por exemplo, polipropileno, tereftalato de poliéster (PET), poliolefina, cicloolefina, policarbonato, resina ABS, polietileno, cloreto de polivinila, e misturas
15 destes. Preferivelmente, o recipiente compreende um ou mais polietilenos selecionados do grupo que consiste em polietileno de alta densidade (HDPE), polietileno de baixa densidade (LDPE), e polietileno linear de baixa densidade (LLDPE). Mais preferivelmente, o recipiente é construído de
20 polietileno de alta densidade.

O recipiente preferivelmente possui uma abertura para permitir a saída da solução aquosa com ORP. A abertura do recipiente pode ser lacrada por qualquer forma adequada. Por exemplo, o recipiente pode ser lacrado com uma tampa ou
25 uma rolha de rosca. Opcionalmente, a abertura pode ainda ser lacrada com uma camada de folha metálica.

A solução aquosa com ORP a ser usada na cavidade abdominal e retroperitônio pode ser formulada e engarrafada na instalação de produção ou rapidamente preparada antes da
30 aplicação, por exemplo, por mistura do estoque com água,

soro fisiológico ou qualquer outra solução aquosa compatível.

O gás do *headspace* do recipiente lacrado pode ser ar ou qualquer outro gás adequado, que preferivelmente não reaja com uma ou mais espécies na solução aquosa com ORP. Gases do *headspaces* adequados podem incluir, por exemplo, nitrogênio, oxigênio, e misturas destes.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também pode ser usada para a prevenção ou o tratamento de uma infecção, por exemplo, por um ou mais patógenos infecciosos como, por exemplo, microorganismos infecciosos. Esses microorganismos podem incluir, por exemplo, vírus, bactérias e fungos. O vírus pode incluir, por exemplo, um ou mais vírus selecionados do grupo que consiste em adenovírus, herpes vírus, vírus coxsackie, HIV, rinovírus, coronavírus e vírus da gripe. As bactérias podem incluir, por exemplo, uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Mycobacterium tuberculosis*. Os fungos podem incluir, por exemplo, um ou mais fungos selecionados do grupo que consiste em *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus athrophaeus*.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também pode ser eficaz contra adenovírus. Preferivelmente, a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção obtém preferivelmente uma redução de log 10 na carga adenoviral acima de cerca de 3, após exposição à solução aquosa com ORP por cerca de 20 minutos, mais preferivelmente, após exposição por cerca de 15 minutos e, ainda mais preferivelmente, após exposição por

cerca de 5 minutos. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção também pode ser eficaz para redução da carga viral de HIV-1, preferivelmente por um fator de redução de log acima de cerca de 2, mais
5 preferivelmente, por um fator de redução de log acima de cerca de 2,5 e, ainda mais preferivelmente, por um fator de redução de log acima de cerca de 3 após exposição à solução aquosa com ORP por cerca de cinco minutos.

De acordo com o método da presente invenção, a
10 administração da solução aquosa com ORP para a prevenção ou o tratamento de infecção também pode servir para evitar ou tratar peritonite associada à infecção (ou aos tecidos afetados), como aqui descrito.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a
15 invenção também pode ser usada para o tratamento de tecido lesionado ou danificado, por exemplo, por contato de um ou mais tecidos debilitados ou danificados com uma quantidade terapeuticamente eficaz da solução aquosa com ORP. Qualquer método adequado pode ser usado para contato do tecido
20 lesionado ou danificado, a fim de tratar o tecido lesionado ou danificado. Por exemplo, o tecido lesionado ou danificado pode ser tratado por irrigação do tecido com a solução aquosa com ORP, a fim de colocar em contato o tecido lesionado ou danificado com uma quantidade
25 terapeuticamente eficaz da solução aquosa com ORP. A solução aquosa com ORP pode ser administrada como um vapor ou um spray, ou por aerossolização, nebulização ou atomização, ou por meio de um dispositivo de pressão negativa ou positiva ou de um dispositivo de hidrocirurgia,
30 como aqui descrito, a fim de colocar em contato o tecido

lesionado ou danificado com uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com ORP.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser usada para o tratamento de tecidos que foram lesionados ou danificados, por exemplo, por cirurgia. Por exemplo, a solução aquosa com ORP pode ser usada para o tratamento de tecidos que foram lesionados ou danificados por uma incisão. Além disso, a solução aquosa com ORP pode ser usada para o tratamento de tecidos que foram lesionados ou danificados por cirurgia de enxerto, cirurgia de implante, cirurgia de transplante, cauterização, amputação, radiação, quimioterapia, e combinações destes. Se desejado, a solução aquosa com ORP pode ser usada para o tratamento de tecidos que foram lesionados ou danificados por cirurgia oral, por exemplo, cirurgia dental como, por exemplo, cirurgia de canal, extração dentária, cirurgia de gengiva, e semelhantes.

É possível que o alto teor de oxigênio e de outras espécies oxidantes na água com ORP administrada de acordo com a invenção (por exemplo, uma ou mais espécies ativas de oxigênio e uma ou mais espécies de cloro) possa exercer propriedades de cicatrização positivas como, por exemplo, a quimiotaxia de fibroblastos e a formação de uma nova matriz extracelular.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser usada para o tratamento de tecidos que foram lesionados ou danificados por um ou mais de queimaduras, cortes, abrasões, arranhões, erupções cutâneas, úlceras, feridas puntiformes, combinações destes, e semelhantes, que não são necessariamente causados por

cirurgia. A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a invenção pode ser usada para o tratamento de tecido lesionado ou danificado que esteja infectado, ou tecido lesionado ou danificado em consequência de infecção. Essa
5 infecção pode ser causada por um ou mais patógenos infecciosos como, por exemplo, um ou mais microorganismos selecionados do grupo que consiste em vírus, bactérias e fungos, como aqui descrito.

De acordo com a presente invenção, a administração da
10 solução aquosa com ORP para o tratamento de tecido lesionado ou danificado também pode servir para evitar ou tratar peritonite associada à lesão ou ao dano (ou ao tecido lesionado ou danificado).

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a
15 invenção também pode ser usada como desinfetante para a erradicação de microorganismos, incluindo bactérias, vírus e esporos, em diversos quadros, por exemplo, nos campos da assistência médica e de dispositivos médicos, para a desinfecção de superfícies e equipamentos médicos, e também
20 foi aplicada no tratamento de feridas, esterilização de dispositivos médicos, esterilização de alimentos, desinfecção das mãos em funcionários da área médica, hospitais, usuários domésticos e antibioterrorismo. A solução aquosa com ORP pode ser usada para a desinfecção de
25 uma superfície, por exemplo, por contato da superfície com uma quantidade antiinfecciosa da solução aquosa com ORP. A superfície pode ser colocada em contato com o uso de qualquer método adequado. Por exemplo, a superfície pode ser colocada em contato por irrigação da superfície com a
30 solução aquosa com ORP, a fim de desinfetar a superfície.

Adicionalmente, a superfície pode ser colocada em contato por aplicação da solução aquosa com ORP à superfície como um vapor ou um spray, ou por aerossolização, nebulização ou atomização ou dispositivos de pressão positiva, como aqui
5 descritos, a fim de desinfetar a superfície. Além disso, a solução aquosa com ORP pode ser aplicada à superfície com um lenço de limpeza, como aqui descrito. Para desinfecção de uma superfície, a superfície pode ser limpa de microorganismos infecciosos. Alternativamente (ou
10 adicionalmente), a solução aquosa com ORP administrada de acordo com a presente invenção pode ser aplicada à superfície para fornecer uma barreira à infecção para, dessa forma, desinfetar a superfície. A solução aquosa com ORP também pode ser usada para desinfetar ou manter a
15 esterilidade dos instrumentos durante cirurgias longas.

As superfícies podem incluir uma ou mais superfícies biológicas, uma ou mais superfícies inanimadas, e combinações destas. Superfícies biológicas podem incluir, por exemplo, tecidos dentro de uma ou mais cavidades
20 corpóreas como, por exemplo, a cavidade oral, a cavidade sinusal, a cavidade craniana, a cavidade abdominal/peritoneal e a cavidade torácica. O tecido biológico também pode incluir tecidos dentro da cavidade oral incluindo, por exemplo, tecido da boca, tecido da
25 gengiva, tecido da língua e tecido da garganta. O tecido biológico também pode incluir tecido muscular, tecido ósseo, tecido de órgãos, tecido mucoso, tecido vascular, tecido neurológico, e combinações destes. Superfícies inanimadas incluem, por exemplo, dispositivos implantáveis
30 cirurgicamente, dispositivos prostéticos e dispositivos

médicos. De acordo com o método da presente invenção, as superfícies de órgãos internos, vísceras, músculo e semelhantes, que podem ser expostas durante cirurgias, podem ser desinfetadas, por exemplo, para manter a
5 esterilidade do ambiente cirúrgico. A administração da solução aquosa com ORP para a desinfecção de uma superfície também pode servir para tratar ou evitar peritonite por prevenção de uma infecção por um ou mais microorganismos suscetíveis que podem residir nessas superfícies.

10 A solução aquosa com ORP também pode ser aplicada a seres humanos e/ou animais para o tratamento de várias condições, incluindo, sem limitação, peritonite associada a um ou mais dos seguintes: agente de limpeza de feridas abertas/cirúrgicas; desinfecção de patógeno cutâneo (por
15 exemplo, para bactérias, micoplasmas, vírus, fungos, príons); desinfecção de feridas de guerra; promoção da cicatrização de feridas; promoção da cicatrização de queimaduras; tratamento de úlceras gástricas; irrigação de feridas; e outras condições como, por exemplo, fungos
20 cutâneos; psoríase; pé de atleta; olho vermelho e outras infecções oculares; infecções do ouvido (por exemplo, ouvido do nadador); infecções pulmonares/nasais/sinusais; e outras aplicações médicas no corpo de um ser humano ou de um animal. O uso de soluções de água com ORP como promotor
25 do crescimento celular tecidual é ainda descrito na Publicação do Pedido de Patente U.S. 2002/0160053 (aqui incorporada por referência).

A solução aquosa com ORP usada de acordo com a invenção possui uma ampla variedade de usos ambientais como
30 desinfetante, detergente, limpador, anti-séptico, e

semelhantes, para o controle da atividade de substâncias indesejadas ou danosas presentes no ambiente. As substâncias que podem ser tratadas com a solução aquosa com ORP incluem, por exemplo, organismos e alérgenos.

5 Outras aplicações podem incluir as seguintes: equipamentos e dispositivos médicos, dentários e/ou veterinários; indústria de alimentos (por exemplo, superfícies duras, frutas, vegetais, carnes); remediação ambiente em hospitais/instalações de assistência médica
10 (por exemplo, superfícies duras); indústria de cosméticos (por exemplo, limpador cutâneo); no ambiente doméstico (por exemplo, pisos, bancadas, superfícies duras); indústria de eletrônicos (por exemplo, limpeza de circuitos, discos rígidos); e bioterrorismo (por exemplo, antraz, micróbios
15 infecciosos).

Organismos que podem ser controlados, reduzidos, mortos ou erradicados por tratamento com a solução aquosa com ORP usada de acordo com a invenção incluem, por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*,
20 *Enterococcus hirae*, *Acinetobacter baumannii*, espécies de *Acinetobacter*, *Bacteroides fragilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (VRE, MDR), *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*,
25 *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Shigella*
30 *dysenteriae*, e outras bactérias suscetíveis, além de

leveduras, por exemplo, *Trichophyton mentagrophytes*,
Candida albicans e *Candida tropicalis*. A solução aquosa com
ORP também pode ser aplicada de acordo com a invenção para
o controle, redução, morte ou erradicação de vírus,
5 incluindo, por exemplo, adenovírus, vírus da
imunodeficiência humana (HIV), rinovírus, influenza (por
exemplo, influenza A), hepatite (por exemplo, hepatite A),
coronavírus (responsável pela Síndrome Respiratória Aguda
Grave (SARS)), rotavírus, vírus respiratório sincicial,
10 vírus do herpes simples, vírus varicela zoster, vírus da
rubéola e outros vírus suscetíveis.

A solução aquosa com ORP usada de acordo com a
invenção também pode ser usada no controle da atividade de
alérgenos presentes no ambiente. Nesse contexto, alérgenos
15 tipicamente incluem qualquer substância diferente de
bactérias, fungos, leveduras ou vírus que possam
desencadear uma resposta imune adversa, ou alergia, em
pessoas ou animais suscetíveis. A asma é uma resposta
fisiológica comum após exposição a um ou mais desses
20 alérgenos. Alérgenos podem ser viáveis (ou seja, de
organismos vivos ou mortos) ou não viáveis (por exemplo,
não vivos como, por exemplo, têxteis), e podem estar
presente no ambiente, por exemplo, no ambiente doméstico
e/ou locais de trabalho.

25 Alérgenos domésticos baseados em proteínas que podem
ser tratados com a solução aquosa com ORP podem incluir,
por exemplo, pêlo, pele e fezes de animais, poeira
doméstica, ervas daninhas, gramas, árvores, ácaros e
polens. Alérgenos animais podem incluir, por exemplo,
30 epitélio de gato, epitélio de cachorro, caspa de cavalo,

caspa de vaca, caspa de cachorro, epitélio de porquinho-da-índia, penas de gansos, epitélio de camundongo, urina de camundongo, epitélio de rato e urina de rato.

Alérgenos ocupacionais podem incluir, por exemplo, 5 agentes de alto peso molecular, tais como, proteínas naturais geralmente derivadas de proteínas de plantas ou animais, e substâncias químicas de baixo peso molecular, por exemplo, diisocianatos, e outros materiais encontrados em alguns têxteis. Outros alérgenos químicos que podem 10 estar presentes no local de trabalho podem incluir, por exemplo, anidridos, antibióticos, poeira de madeiras e corantes. Várias proteínas podem ser alérgenos ocupacionais, incluindo gomas vegetais, enzimas, proteínas animais, insetos, proteínas de plantas e legumes.

Alérgenos adicionais que podem ser tratados pela 15 solução aquosa com ORP são descritos em Korenblat e Wedner, "Allergy Theory and Practice" (1992) e Middleton, Jr., "Allergy Principles and Practice" (1993).

A solução aquosa com ORP pode ser aplicada para 20 desinfetar e esterilizar de qualquer forma adequada. Por exemplo, para desinfetar e esterilizar equipamento médico ou dentário, o equipamento pode ser mantido em contato com a solução aquosa com ORP por um período de tempo suficiente para reduzir o nível de organismos presentes no equipamento 25 até um nível desejado.

Para desinfecção e esterilização de superfícies duras, a solução aquosa com ORP pode ser aplicada à superfície dura diretamente de um recipiente no qual a solução aquosa com ORP é armazenada. Por exemplo, a solução aquosa com ORP 30 pode ser derramada, pulverizada ou de algum outro modo

aplicada diretamente à superfície dura. A solução aquosa com ORP pode então ser distribuída sobre a superfície dura com o uso de um substrato adequado como, por exemplo, pano, tecido ou toalha de papel. Em aplicações hospitalares, o
5 substrato é preferivelmente estéril. Alternativamente, a solução aquosa com ORP pode primeiro ser aplicada a um substrato como, por exemplo, pano, tecido ou toalha de papel. O substrato umedecido pode então ser colocado em contato com a superfície dura. Alternativamente, a solução
10 aquosa com ORP pode ser aplicada às superfícies duras por dispersão da solução no ar, como aqui descrito. A solução aquosa com ORP pode ser aplicada de forma similar a seres humanos e animais.

A solução aquosa com ORP também pode ser aplicada com
15 um lenço de limpeza que compreende um substrato não hidrossolúvel e a solução aquosa com ORP aqui descrita, em que a solução aquosa com ORP é distribuída sobre o substrato. A solução aquosa com ORP pode ser impregnada, revestida, coberta ou de algum outro modo aplicada ao
20 substrato. Preferivelmente, o substrato é pré-tratado com a solução aquosa com ORP, antes da distribuição dos lenços de limpeza aos usuários finais.

O substrato para o lenço de limpeza pode ser qualquer material absorvente ou adsorvente não hidrossolúvel
25 adequado. Diversos materiais podem ser usados como substrato. Ele deve ter resistência à umidade, abrasividade, maciez e porosidade suficientes. Além disso, o substrato não deve afetar de forma adversa a estabilidade da solução aquosa com ORP. Exemplos incluem substratos não
30 entrelaçados, substratos entrelaçados, substratos hidro-

entrelaçados e esponjas.

O substrato pode ter uma ou mais camadas. Cada camada pode ter texturas e abrasividade iguais ou diferentes. Texturas diferentes podem ser causadas pelo uso de
5 diferentes combinações de materiais ou pelo uso de diferentes processos de manufatura ou uma combinação destes. O substrato não deve se dissolver ou se degradar na água. O substrato pode, desse modo, fornecer um veículo para a liberação da solução aquosa com ORP à superfície a
10 ser tratada.

O substrato pode ser uma única folha não entrelaçada ou múltiplas folhas não entrelaçadas. A folha não entrelaçada pode ser feita de polpa de madeira, fibras sintéticas, fibras naturais, e misturas destas. Fibras
15 sintéticas adequadas para uso no substrato podem incluir, sem limitação, poliéster, viscose, náilon, polipropileno, polietileno, outros polímeros de celulose, e misturas dessas fibras. Os não entrelaçados podem incluir materiais não entrelaçados fibrosos de folha que incluem fundidos a
20 sopro, co-formados, *air-laid*, ligados por fiação, colocados a úmido, materiais de trama *bonded-carded*, materiais hidro-entrelaçados (também conhecida como *spunlaced*), e combinações destes. Esses materiais podem compreender fibras sintéticas ou naturais, ou combinações destas. Um
25 ligante pode opcionalmente estar presente no substrato.

Exemplos de substratos não entrelaçados e não hidrossolúveis adequados incluem celulose 100% Wadding de Grau 1804 de Little Rapids Corporation, material de polipropileno 100% perfurado NB 701-2.8-W/R de American
30 Non-wovens Corporation, uma mistura de fibras celulósicas e

sintéticas Hydraspun 8579 de Ahlstrom Fibre Composites e Viscose 70%/PES 30% Código 9881 de PGI Nonwovens Polymer Corp. Exemplos adicionais de substratos não entrelaçados adequados para uso nos lenços de limpeza são descritos nas 5 Patentes U.S. N^{os} 4.781.974, 4.615.937, 4.666.621 e 5.908.707 e nas Publicações de Pedido de Patente Internacional WO 98/03713, WO 97/40814 e WO 96/14835 (aqui incorporadas por referência).

O substrato também pode ser feito de materiais 10 entrelaçados, tais como fibras de algodão, misturas de algodão/náilon ou outros têxteis. Celulose regenerada, espumas de poliuretano, e semelhantes, que são usadas na produção de esponjas, também são adequadas para uso.

A capacidade de carga líquida do substrato deve ser de 15 pelo menos cerca de 50%-1.000% do peso seco deste, principalmente pelo menos cerca de 200%-800%. Isso é expresso como carga de 1/2 a 10 vezes o peso do substrato. O peso do substrato varia, sem limitação, de cerca de 0,01 a cerca de 1.000 gramas por metro quadrado, principalmente 20 25 a 120 gramas/m² (denominado "peso-base"), e tipicamente é produzido como uma folha ou trama que é cortada, cortada sob pressão, ou de algum outro modo dimensionada no formato e tamanho apropriados. Os lenços de limpeza terão preferivelmente certa resistência tênsil úmida que é, sem 25 limitação, de cerca de 25 a cerca de 250 Newtons/m, mais preferivelmente, de cerca de 75-170 Newtons/m.

A solução aquosa com ORP pode ser distribuída, impregnada, revestida, coberta ou de algum outro modo aplicada ao substrato por qualquer método adequado. Por 30 exemplo, porções individuais de substrato podem ser

tratadas com uma quantidade distinta da solução aquosa com ORP. Preferivelmente, é feito um tratamento de massa de uma trama contínua de material de substrato com a solução aquosa com ORP. Toda a trama de material de substrato pode ser embebida na solução aquosa com ORP. Alternativamente, à medida que a trama de substrato é rebobinada, ou até mesmo durante a criação de um substrato não entrelaçado, a solução aquosa com ORP pode ser pulverizada ou metrificada sobre a trama. Uma pilha de porções de substrato cortadas e dimensionadas individualmente pode ser impregnada ou revestida com a solução aquosa com ORP em seu recipiente pelo fabricante.

Os lenços de limpeza opcionalmente podem conter componentes adicionais para aprimorar as propriedades dos lenços. Por exemplo, os lenços de limpeza podem ainda compreender polímeros, tensoativos, polissacarídeos, policarboxilatos, alcoóis polivinílicos, solventes, agentes quelantes, tampões, espessantes, pigmentos, corantes, fragrâncias, e misturas destes para aprimorar as propriedades dos lenços. Esses componentes opcionais não devem afetar de forma adversa a estabilidade da solução aquosa com ORP. Exemplos de vários componentes que podem opcionalmente ser incluídos nos lenços de limpeza são descritos nas Patentes U.S. 6.340.663, 6.649.584 e 6.624.135 (aqui incorporadas por referência).

Os lenços de limpeza da invenção podem ser lacrados individualmente com uma capa termoplástica lacrada com calor ou com cola (por exemplo, polietileno, Mylar, e semelhantes). Os lenços também podem ser embalados como várias folhas individuais para uma distribuição mais

econômica. Os lenços de limpeza podem ser preparados colocando-se inicialmente várias folhas do substrato em um dispensador, e a seguir colocando-se em contato as folhas de substrato com a solução aquosa com ORP da invenção.

5 Alternativamente, os lenços de limpeza podem ser formados como uma trama contínua aplicando-se a solução aquosa com ORP ao substrato durante o processo de manufatura, e depois colocando-se o substrato umedecido em um dispensador.

O dispensador inclui, sem limitação, uma lata com um
10 fechamento ou um tubo com fechamento. O fechamento no dispensador é para isolar os lenços úmidos do ambiente externo, e para evitar a volatilização prematura dos ingredientes líquidos.

O dispensador pode ser feito de qualquer material
15 adequado que seja compatível tanto com o substrato quanto com a solução aquosa com ORP. Por exemplo, o dispensador pode ser feito de plástico como, por exemplo, polietileno de alta densidade, polipropileno, policarbonato, polietileno tereftalato (PET), cloreto de polivinila (PVC),
20 ou outros plásticos rígidos.

A trama contínua de lenços pode ser passada através de uma abertura fina no topo do dispensador, principalmente, através do fechamento. Pode então ser necessário um meio para dimensionar o comprimento ou o tamanho desejado do
25 lenço da trama. Pode ser fornecida uma lâmina cortante, uma borda serrilhada ou outro meio de corte da trama no tamanho desejado no topo do dispensador, como exemplo não limitante, com a abertura fina na verdade se desdobrando em uso como uma borda cortante. Alternativamente, a trama
30 contínua de lenços pode ser marcada, dobrada, segmentada,

perfurada ou parcialmente cortada em tamanhos ou comprimentos uniformes ou não uniformes, o que então evitaria a necessidade de uma borda cortante afiada. Além disso, os lenços podem ser interfoliados a fim de que a
5 remoção de um lenço avance o lenço seguinte.

A solução aquosa com ORP da invenção alternativamente pode ser dispersa no ambiente através de um meio gasoso como, por exemplo, ar. A solução aquosa com ORP pode ser dispersa no ar por qualquer meio adequado. Por exemplo, a
10 solução aquosa com ORP pode ser formada em gotículas de qualquer tamanho adequado e dispersa em uma sala.

Para aplicações em pequena escala, a solução aquosa com ORP pode ser dispensada por meio de um atomizador que inclui uma coluna e bomba. Alternativamente, a solução
15 aquosa com ORP pode ser embalada em recipientes de aerossol. Os recipientes de aerossol podem incluir o produto a ser dispensado, um propelente, um recipiente e uma válvula. A válvula pode incluir um ativador e um tubo de imersão. O conteúdo do recipiente pode ser dispensado
20 pressionando-se o ativador. Os vários componentes do recipiente de aerossol devem ser compatíveis com a solução aquosa com ORP. Propelentes adequados podem incluir um halocarbono liquefeito, hidrocarboneto ou mistura halocarbono-hidrocarboneto, ou um gás comprimido como, por
25 exemplo, dióxido de carbono, nitrogênio ou óxido nitroso. Sistemas em aerossol preferivelmente geram gotículas que possuem um tamanho que varia de cerca de 0,15 µm a cerca de 5 µm.

A solução aquosa com ORP administrada de acordo com a
30 invenção opcionalmente pode conter aditivos adequados, por

exemplo, para a limpeza de ambientes domésticos e de trabalho. Aditivos adequados podem incluir, por exemplo, tensoativos, tais como detergentes e agentes de limpeza. Perfumes ou outros compostos que produzem aroma também
5 podem ser incluídos para aumentar a receptividade do consumidor da solução aquosa com ORP. Alternativamente, pode ser adicionado um corante marcador para facilitar a avaliação da aplicação específica.

Para algumas aplicações, a solução aquosa com ORP pode
10 opcionalmente conter um agente alvejante. O agente alvejante pode incluir, por exemplo, a composto que clareia ou embranquece um substrato. A solução aquosa com ORP que contém um agente alvejante pode ser usada na lavagem de roupa doméstica para desinfetar e esterilizar bactérias e
15 germes, além de clarear roupas. Agentes alvejantes adequados incluem, sem limitação, agentes alvejantes que contêm cloro e agentes alvejantes que contêm peróxido. Também podem ser adicionadas misturas de agentes alvejantes à solução aquosa com ORP. O agente alvejante pode ser
20 adicionado na forma de uma solução aquosa à solução aquosa com ORP.

Agentes alvejantes que contêm cloro adequados podem incluir, por exemplo, cloro, hipocloritos, compostos de N-cloro e dióxido de cloro. Preferivelmente, o agente
25 alvejante que contém cloro adicionado à solução aquosa com ORP é hipoclorito de sódio ou ácido hipocloroso. Outros agentes alvejantes que contêm cloro adequados incluem, por exemplo, cloro, hipoclorito de cálcio, solução alvejante (por exemplo, solução aquosa de hipoclorito de cálcio e
30 cloreto de cálcio), pó alvejante (por exemplo, mistura de

hipoclorito de cálcio, hidróxido de cálcio, cloreto de cálcio, e hidratos destes), hipoclorito dibásico de magnésio, hipoclorito de lítio, fosfato trissódico clorado, e misturas destes.

5 A adição de um agente alvejante à solução aquosa com ORP pode ser feita de qualquer modo adequado. Por exemplo, uma solução aquosa que contém um agente alvejante pode ser preparada com o uso de alvejante doméstico (por exemplo, alvejante Clorox®) ou outra fonte adequada de agente
10 alvejante que contém cloro ou outro agente alvejante. A solução do agente alvejante pode então ser combinada com a solução aquosa com ORP.

O agente alvejante pode ser adicionado à solução aquosa com ORP em qualquer quantidade adequada.
15 Preferivelmente, a solução aquosa com ORP que contém um agente alvejante não é irritante para a pele humana ou animal. O teor total de íons cloreto da solução aquosa com ORP que contém um agente alvejante que contém cloro pode ser de cerca de 1.000 ppm a cerca de 5.000 ppm, por
20 exemplo, de cerca de 1.000 ppm a cerca de 3.000 ppm. O pH da solução aquosa com ORP que contém um agente alvejante que contém cloro é preferivelmente de cerca de 8 a cerca de 10, e o potencial de oxirredução da solução é preferivelmente de cerca de +700 mV a cerca de +800 mV.

25 Os exemplos a seguir ilustram ainda mais a invenção, mas, evidentemente, não devem ser considerados de forma alguma como limitantes de seu escopo.

EXEMPLOS 1-3

Esses exemplos demonstram as características únicas da
30 solução aquosa com ORP usada de acordo com a invenção. As

amostras da solução aquosa com ORP nos Exemplos 1-3 foram analisadas de acordo com os métodos aqui descritos para determinar as propriedades físicas e os níveis de espécies iônicas e de outras espécies químicas presentes em cada amostra. Os resultados obtidos para dióxido de cloro, ozônio e peróxido de hidrogênio se baseiam em testes-padrão usados para medir estas espécies, mas podem ser indicativos de espécies diferentes, o que também pode gerar resultados positivos do teste. Além disso, foi relatado que dióxido de cloro, ozônio e peróxido de hidrogênio reagem com hipoclorito, resultando no seu consumo e na produção de outros compostos (por exemplo, HCl e O₂). O pH, o potencial de oxirredução (ORP) e as espécies iônicas presentes são apresentados na Tabela 1 para cada amostra da solução aquosa com ORP.

Tabela 1. Características físicas e espécies iônicas presentes para as amostras de solução aquosa com ORP

	EXEMPLO 1	EXEMPLO 2	EXEMPLO 3
pH	7,45	7,44	7,45
ORP (mV)	+879	+881	+874
Cl ⁻ total (ppm)	110	110	120
Cl ⁻ ligado (ppm)	5	6	6

A solução aquosa com ORP possui características físicas adequadas para uso, por exemplo, na desinfecção, esterilização, limpeza e/ou na prevenção e/ou no tratamento de inflamação, sinusite, peritonite ou infecção.

EXEMPLOS 4-10

Esses exemplos demonstram a adição de um agente alvejante à solução aquosa com ORP de acordo com a invenção em várias quantidades. Em particular, esses exemplos

demonstram a atividade antimicrobiana e a capacidade de branqueamento de tecidos das composições.

Uma solução alvejante 10% Clorox® foi preparada com o uso de água destilada. As soluções seguintes foram então preparadas com a utilização da solução alvejante 10%: solução aquosa com ORP 80%/alvejante 20% (Exemplo 4); solução aquosa com ORP 60%/alvejante 40% (Exemplo 5); solução aquosa com ORP 40%/alvejante 60% (Exemplo 6); solução aquosa com ORP 20%/alvejante 80% (Exemplo 7); e solução aquosa com ORP 0%/alvejante 100% (Exemplo 8). Também foram usadas soluções de controle para comparação, incluindo solução aquosa com ORP 100%/alvejante 0% (Exemplo 9) e uma solução aquosa com ORP com detergente Tween 20 0,01% (Exemplo 10). As características físicas dessas amostras foram determinadas, especificamente o pH, o potencial de oxirredução (ORP), o teor total de cloro (Cl⁻) e de ácido hipocloroso (HClO), e foram testadas quanto ao teor de dióxido de cloro e teor de peróxido, cujos resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Características físicas das composições de solução aquosa com ORP/alvejante

	pH	ORP	Cl ⁻ Total (ppm)	HClO ⁻ (ppm)
Ex. 4	8,92	+789	1.248	62
Ex. 5	9,20	+782	2.610	104
Ex. 6	9,69	+743	4.006	80
Ex. 7	9,86	+730	4.800	48
Ex. 8	9,80	+737	5.000	50
Ex. 9	7,06	+901	64	32
Ex. 10	6,86	+914	51	26

O grande bolo de íons cloro adicionado como parte do

agente alvejante impediu a medida precisa dos níveis de dióxido de cloro e peróxido, como indicado pelas designações n.d. Além disso, os resultados obtidos para dióxido de cloro e peróxido se baseiam em testes-padrão
5 usados para medir estas espécies, mas podem ser indicativos de espécies diferentes que também podem gerar resultados positivos do teste. Além disso, foi relatado que dióxido de cloro, ozônio e peróxido de hidrogênio reagem com hipoclorito, resultando no seu consumo e na produção de
10 outros compostos (por exemplo, HCl e O₂). Como esses exemplos demonstram, os níveis de ácido hipocloroso da solução aquosa com ORP, com e sem a adição de um agente alvejante, são similares.

As amostras dos Exemplos 4-10 foram submetidas a um
15 teste de contagem de esporos superiores com a utilização de esporos de *Bacillus subtilis* var. *niger* (ATCC N°: 9.372 obtido de "SPS Medical of Rush", Nova York). As suspensões de esporos foram concentradas (por evaporação em uma coifa estéril) até 4×10^6 esporos por 100 microlitros. Uma
20 amostra de 100 microlitros da suspensão de esporos foi misturada com 900 microlitros de cada uma das amostras nos Exemplos 4-10. As amostras foram incubadas em temperatura ambiente por períodos de 1 a 5 minutos, como mostrado na Tabela 3. Nos momentos indicados, 100 microlitros das
25 amostras incubadas foram plaqueados em placas de TSA individuais e incubados por 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, e após esse tempo o número de colônias resultantes em cada placa foi determinado. As placas de controle demonstraram que as concentrações de esporos de partida eram $> 1 \times 10^6$
30 esporos/100 microlitros. A concentração de esporos de

Bacillus para as várias amostras nos vários períodos de incubação (como a média de duas determinações) é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Concentrações de esporos de *Bacillus*

	1 minuto	2 minutos	3 minutos	4 minutos	5 minutos
Ex. 4	» 1.000	411	1	0	2
Ex. 5	» 1.000	1.000	1	0	0
Ex. 6	» 1.000	» 1.000	> 1.000	22	0
Ex. 7	» 1.000	» 1.000	> 1.000	15	0
Ex. 8	» 1.000	» 1.000	> 1.000	3	1
Ex. 9	» 1.000	74	0	0	0
Ex 10	» 1.000	239	3	0	0

5 Como esses resultados demonstram, à medida que a concentração de alvejante (como solução alvejante aquosa 10%) aumenta, a quantidade de esporos de *Bacillus* morta é reduzida para as amostras incubadas por 2-3 minutos. No entanto, para amostras incubadas por 5 minutos, a
 10 concentração de alvejante não interfere com a morte de esporos de *Bacillus*. Além disso, os resultados demonstram que a adição de detergente 0,01% à solução aquosa com ORP não reduz a morte de esporos.

15 As amostras dos Exemplos 4-10 foram submetidas a um teste de branqueamento de tecidos. Os tecidos sobre os quais as amostras foram testadas eram camisetas de crianças com 100% de viscose com manchas de corante azul escuro. Pedacos de 12,903 centímetros quadrados de tecido tingido foram colocados em tubos plásticos de 50 ml. Cada pedaço de
 20 tecido foi coberto por uma amostra da solução nos Exemplos 4-10. O tempo decorrido até o branqueamento completo ser obtido, como determinado pelo branqueamento do tecido, é

apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Tempo até o branqueamento completo da amostra de tecido

Exemplo	Tempo
Ex. 4	39 minutos
Ex. 5	23 minutos
Ex. 6	18 minutos
Ex. 7	19 minutos
Ex. 8	10 minutos
Ex. 9	> 6 horas
Ex. 10	> 6 horas

Como demonstrado por esses exemplos, à medida que a
 5 concentração da solução aquosa com ORP aumenta na
 composição, o tempo até o branqueamento completo ser obtido
 aumenta.

EXEMPLO 11

A finalidade desse estudo foi avaliar a segurança do
 10 teste de uma solução aquosa com ORP exemplar, Microcyn,
 quando administrada como gotas na cavidade nasal de
 coelhos. Trinta e três coelhos foram distribuídos
 aleatoriamente em dois grupos, Grupos I e II. O Grupo I (18
 animais) serviu como o grupo de controle, e o Grupo II (15
 15 animais) foi dosado com o artigo de teste. No 1º Dia ou no
 Dia 0, os pesos corporais foram registrados e amostras de
 sangue foram coletadas para análise de parâmetros
 selecionados. No Dia 0, 500 µl de soro fisiológico estéril
 foram administrados aos animais do Grupo I, e 500 µl do
 20 artigo de teste (em uma concentração de 50%) foram
 administrados aos animais do Grupo II. Tanto o artigo de
 controle quanto o artigo de teste foram administrados duas

vezes diariamente como gotas na narina direita. Os animais foram dosados da mesma forma nos 1°-6° Dias. Os animais foram observados diariamente quanto aos sinais de efeitos farmacológicos e/ou toxicológicos, com atenção especial ao nariz. Os pesos corporais foram registrados semanalmente até o término do estudo. No 7° Dia, um terço dos animais de cada grupo foi selecionado para coleta de sangue, sacrifício e necropsia. Os animais restantes continuaram a ser dosados até o 14° Dia, quando metade dos animais de cada grupo foi selecionada para coleta de sangue, sacrifício e necropsia. No 21° Dia, após um período de recuperação de 7 dias, os animais restantes tiveram o sangue coletado, e foram sacrificados e submetidos à necropsia. Amostras da mucosa nasal de ambas as narinas foram coletadas de cada animal para análise histopatológica.

A necropsia consistiu em observações macroscópicas do trato respiratório. Toda a passagem nasal e os ossos associados foram coletados e fixados em formalina tamponada. Amostras de quaisquer anormalidades visíveis no trato respiratório também foram coletadas para histopatologia. Três amostras de biópsia (cavidade nasal anterior, média e posterior) por narina (direita tratada e esquerda não tratada) foram examinadas. A histopatologia microscópica da mucosa nasal incluiu: integridade do epitélio, presença ou ausência de cílios epiteliais, infiltração de células inflamatórias, edema, presença de células caliciformes, hiperplasia de glândulas, alterações no número ou nas características de vasos sanguíneos e quaisquer outras alterações ou observações.

Os resultados (observações em vida, incluindo observações nasais, pesos corporais, análise sanguínea, resultados da necropsia macroscópica e da histopatologia) do grupo de teste foram comparados com o grupo de controle. O grupo de teste não era significativamente diferente dos animais tratados com soro fisiológico em termos de irritação leve.

EXEMPLO 12

Esse exemplo demonstra a ausência de toxicidade e estabilidade de soluções de água com ORP.

Foram feitos estudos toxicológicos nos quais Microcyn 60 foi aplicada topicamente à pele intacta, com o uso de uma única aplicação com exposição de 4 a 24 horas. Várias aplicações de Microcyn 60, uma ou duas vezes ao dia, durante um período de 7 dias, foram avaliadas em feridas profundas em ratos.

Foram feitos dois estudos na pele intacta de coelhos para avaliar o efeito de Microcyn 60 quanto à irritação aguda e toxicidade dérmica. Não foram encontrados sinais clínicos, irritação dérmica ou anormalidades na pele na necropsia em nenhum dos animais expostos à Microcyn 60.

A caracterização da toxicidade local e sistêmica de Microcyn 60 aplicada topicamente em uma ferida profunda foi avaliada em ratos. Não foram observadas anormalidades ou diferenças significativas nos parâmetros da bioquímica do sangue ou na citologia hematológica, nem anormalidades nas autópsias. As gradações da irritação cutânea e a histopatologia das feridas e dos tecidos em torno do local de aplicação não revelaram qualquer diferença entre as feridas tratadas com Microcyn 60 e aquelas do grupo de

controle tratado com soro fisiológico.

A toxicidade sistêmica de Microcyn 60 também foi avaliada por meio de uma injeção intraperitoneal em camundongos. Para isso, cinco camundongos foram injetados
5 com uma dose única (50 ml/kg) de Microcyn 60 pela via intraperitoneal. Da mesma forma, cinco camundongos de controle foram injetados com uma dose única (50 ml/kg) de soro fisiológico (cloreto de sódio a 0,9%). Nessa investigação, não foram observadas mortalidade nem qualquer
10 evidência de toxicidade sistêmica em qualquer um dos animais que receberam a dose intraperitoneal única de Microcyn 60, indicando que a LD₅₀ é acima 50 ml/kg.

Microcyn 60 foi administrada pela via oral em ratos para permitir sua absorção e para caracterizar qualquer
15 efeito tóxico inerente ao produto. Nesse estudo, uma dose única (4,98 ml/kg) foi administrada por um tubo esofágico a três ratos albinos da cepa Sprague-Dawley. Não houve mortalidade, nem havia sinais clínicos ou anormalidades nas autópsias de qualquer um dos animais expostos à dose oral
20 única de Microcyn 60.

O potencial de Microcyn 60 aplicada topicamente para irritação ocular também foi avaliado em coelhos. Não foi observada irritação ocular ou qualquer outro sinal clínico em qualquer animal exposto à Microcyn 60 por administração
25 tópica por meio da via ocular.

Microcyn 60 foi aplicada pela via inalatória em ratos para determinar a toxicidade aguda potencial por inalação. Todos os animais mostraram uma redução muito discreta ou discreta da atividade e piloereção após a exposição, mas
30 todos estavam assintomáticos no dia seguinte. Não foi

observada mortalidade ou anormalidades na autópsia dos animais expostos à Microcyn 60 por inalação.

A avaliação do potencial para sensibilização da pele com Microcyn 60 foi realizada em porquinhos-da-índia usando
5 um método de oclusão com curativo modificado (Buehler). Não foi observada irritação nos animais do grupo de controle após um ataque de tratamento simples, nem nos animais avaliados (tratados por indução) após ataque com o
10 tratamento. Esses estudos demonstram que Microcyn 60 não provoca uma reação de sensibilização.

Dessa forma, quando foi aplicada à pele intacta, a feridas dérmicas abertas profundas, no saco conjuntival, por vias oral e de inalação ou por meio de injeção intraperitoneal, Microcyn 60 não mostrou efeitos adversos
15 relacionados ao produto. Também há experiência no tratamento de mais de milhares de pacientes com feridas de natureza muito diversa na pele e nas mucosas, com excelentes resultados anti-sépticos e cosméticos. Conseqüentemente, Microcyn 60 aplicada topicamente deve ser
20 eficaz e bem tolerada em seres humanos.

Microcyn 60 é embalada em garrafas PET transparentes lacradas de 240 ml. Esse produto é estocado em temperatura ambiente e permanece estável por até 2 anos nessas
25 garrafas. A partir de seu perfil de alta segurança biológica, Microcyn 60 pode ser descartada com segurança, por exemplo, por esvaziamento na pia, sem risco de contaminação ou corrosão.

Foram feitos vários experimentos microbianos com Microcyn 60, tanto nos Estados Unidos quanto no México. A
30 erradicação de mais de 90% das bactérias ocorre nos

primeiros segundos de exposição. A atividade antibacteriana e antimicótica que Microcyn 60 exhibe de acordo com esse padrão é resumida na Tabela 5.

Tabela 5. Tempos de morte.

Bactéria	Catálogo	Tempo de ação (redução abaixo de 99,999%)
<i>Ps. aeruginosa</i>	ATCC 25.619	1 min
<i>St. aureus</i>	ATCC 6.538	1 min
<i>E. coli</i>	ATCC 11.229	1 min
<i>S. typhi</i>	CDC 99	1 min
<i>C. albicans</i>	ATCC	1 min
<i>B. subtilis</i>	9.372	
Esporos baixos (10^4)		10 min
Esporos altos (10^6)		15 min

5 O experimento de atividade esporicida foi realizado de acordo com o protocolo da OPAS [Organização Pan-Americana de Saúde]/OMS (Organização Mundial de Saúde).

A atividade viricida de Microcyn 60 foi recentemente confirmada em estudos realizados nos Estados Unidos contra
 10 HIV, e sua atividade contra *Listeria monocytogenes*, MRSA e *Mycobacterium tuberculosis* também foi demonstrada. Dessa forma, foi demonstrado que Microcyn 60, quando administrada como recomendado, pode erradicar bactérias, fungos, vírus e esporos com um a quinze minutos de exposição.

15 **EXEMPLO 13**

Esse exemplo demonstra a atividade viricida de uma solução aquosa com ORP exemplar contra Adenovírus -
 sorotipo 5. Para esse exemplo, foram usados vetores adenovirais (Ad) baseados no adenovírus humano do tipo 5,
 20 que são Ela-, parcialmente E1-b, e parcialmente E3

eliminados. Um plasmídeo *shuttle* que contém o gene repórter da Proteína Verde Fluorescente (GFP) sob o controle de transcrição de pCMV foi preparado (pAd-Track). A recombinação homóloga desse plasmídeo pShuttle com
5 plasmídeo AdEasy 1 foi realizada em bactérias eletrocompetentes. Os clones que tinham inserções foram testados por digestões por endonuclease de restrição. Após confirmado, o plasmídeo DMA *supercoiled* foi transformado em células DH10B para amplificação em maior escala.
10 Subseqüentemente, 293 células (ATCC 1573) foram cultivadas em meio sem soro (OptiMEM-GIBCO) e transfectadas com plasmídeo recombinante digerido com *Pad*. As células infectadas foram monitoradas quanto ao efeito citopático, coletadas e lisadas com três ciclos de congelamento e
15 descongelamento. Os vírus resultantes (AdGFP) foram purificados com colunas AdenoPure (BD Clontech) de acordo com as instruções do fabricante. Os vírus foram quantificados por OD 260/280. O rendimento final foi de $1,52 \times 10^{11}$ pfu/ml.

20 A eficácia da solução aquosa com ORP para inativação de adenovírus que codifica o gene da proteína verde fluorescente (AdGFP) foi avaliada com a utilização de um teste baseado na detecção de emissão de fluorescência por células HeLa infectadas com vírus AdGFP de controle ou com
25 AdGFP tratado com solução aquosa com ORP, usando citometria de fluxo ativada por fluorescência. A infecção de células HeLa foi sempre feita com $7,5 \times 10^7$ pfu/ml (ou seja, 150 m.o.i.). Em todas as condições de teste, as células pareciam normais sob microscopia óptica. A fluorescência de
30 fundo medida em células HeLa de controle foi de 0,06%. Após

infecção com AdGFP de controle, 88,51% das células HeLa expressavam GFP. Após exposição à solução aquosa com ORP, a infectividade do adenovírus diminuiu de forma inversamente proporcional ao período de exposição. Conseqüentemente, o vírus tratado com solução aquosa com ORP por 1, 5 e 10 minutos só podia expressar GFP em 2,8%, 0,13% e 0,09% de culturas de células HeLa, respectivamente. Considerando a autofluorescência e a carga viral inicial para todas as condições testadas (ou seja, $7,5 \times 10^7$ pfu), a titulação infecciosa foi de $6,6 \times 10^7$ pfu no grupo AdGFP-HeLa de controle. Nos grupos em que o vírus foi tratado com a solução aquosa com ORP, as titulações infecciosas foram de $2,0 \times 10^6$, $5,2 \times 10^4$ e $2,2 \times 10^4$ em um, cinco e dez minutos de exposição do vírus à solução aquosa com ORP, respectivamente. Portanto, o fator de redução de log 10 foi de 1,5, 3,1 e 3,5 em um, cinco e dez minutos de exposição viral à solução aquosa com ORP. Considerados em conjunto, esses resultados demonstram que a exposição do vírus à solução aquosa com ORP por 5 minutos obtém uma redução de log 10 na carga viral > 3 .

EXEMPLO 14

Esse exemplo demonstra a eficácia viricida de uma solução aquosa com ORP exemplar contra HIV com o uso do protocolo da "United States Environmental Protection Agency" para desinfecção de superfícies ambientais inanimadas.

A cepa SF33 de HIV-1 foi usada para esse estudo. Células mononucleares do sangue periférico de doadores saudáveis foram ativadas com PHA ($3 \mu\text{g/ml}$, Sigma) e IL-2 humana (20 U/ml , Roche) em meios HUT por três dias. As

células foram lavadas e infectadas com a cepa com SF33. O sobrenadante foi coletado nos 4° e 6° dias, e testado quanto ao antígeno de HIV-1 p24 por ELISA (Beckman Coulter). O sobrenadante foi centrifugado para remover
5 células e restos a 314 rad/s por 20 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi removido, dividido em alíquotas, e o vírus foi estocado a -80°C até o dia de sua utilização.

As alíquotas congeladas foram descongeladas a 37°C por
10 dois minutos, imediatamente antes de sua utilização. Foram usadas diluições logarítmicas seriais (-1 a -5) em meio HUT. As películas de vírus foram preparadas espalhando-se 0,2 ml de inóculo de vírus uniformemente sobre os fundos de placas de Petri de poliestireno estéreis de 55 cm². As
15 películas de vírus foram secas ao ar em temperatura ambiente (21°C) em um gabinete de segurança biológica, até que parecessem visivelmente secas (20 minutos) (para assegurar que a cepa do vírus (SF33) era capaz de replicar e causar efeitos citopáticos, o procedimento foi repetido
20 com uma suspensão viral que havia permanecido em meio HUT sem ser seca).

A película de controle foi exposta a 2 ml de meios HUT por cinco minutos. O vírus foi raspado e diluído. Películas secas separadas foram expostas a 2 ml cada da solução
25 aquosa com ORP por cinco minutos em temperatura ambiente. Após o tempo de exposição, as placas foram raspadas e seu conteúdo foi ressuspenso. A mistura de vírus-solução aquosa com ORP foi imediatamente diluída (10:1) em meio HUT. Diluições log seriais da suspensão resultante foram
30 testadas quanto à infectividade (para controlar um possível

efeito citotóxico direto da solução aquosa com ORP sobre células MT-2, uma alíquota de 2 ml da solução aquosa com ORP foi diluída serialmente (10:1 até 10:5) em meio, e inoculada em culturas de células MT-2). [0211] A linhagem de células MT-2 foi usada como a linhagem celular indicadora nos ensaios de infectividade. Essa linhagem mostra um efeito citopático que consiste na formação de sincícios quando infectada com HIV-1. Quatro micropoços foram inoculados com 0,2 ml de cada diluição da suspensão reconstituída de vírus dos grupos de teste (reconstituídos em água com ORP) e de controle (reconstituídos com meio de controle). Os controles de células não infectadas célula foram inoculados somente com meio de teste. As culturas foram incubadas a 37°C e CO₂ 5%.

As culturas foram pontuadas periodicamente a cada dois dias quanto à presença ou ausência de efeito citopático, bem como quanto à presença de antígeno p24-HIV-1 por ELISA. A infecção experimental com HIV-1 de controle exerceu um efeito citopático e liberação de proteína Ag p24 no sobrenadante em culturas de MT-2 infectadas. Em contraste, o tratamento de HIV-1 com a solução aquosa com ORP por cinco minutos obteve um fator de redução de log > 3 na carga viral medida em culturas de MT-2 por ambos os ensaios. Dessa forma, esses resultados demonstram que o nível de eficácia está em conformidade com as exigências da EPA para atividade viricida de HIV-1 sobre superfícies inanimadas.

EXEMPLO 15

Esse exemplo demonstra o efeito de uma solução aquosa com ORP exemplar versus peróxido de hidrogênio (HP) sobre a

viabilidade de fibroblastos diplóides humanos (HDFs). Para estudar essa toxicidade potencial, os HDFs foram expostos *in vitro* à solução aquosa com ORP e ao peróxido de hidrogênio (HP). O HP é conhecido por ser tóxico para as células eucarióticas, aumentando a apoptose e a necrose e reduzindo a celular viabilidade. Nesse exemplo, a viabilidade celular, a apoptose e a necrose foram medidas em HDFs expostos à solução aquosa com ORP pura e a 880 mM de HP (uma concentração empregada para usos anti-sépticos de HP) por 5 e 30 minutos.

As culturas de HDFs foram obtidas de três diferentes prepúcios, que foram reunidos em *pool* e crio-preservados juntos para serem utilizados nesse estudo. Só foram usadas células diplóides para todos os experimentos. Na análise do ciclo celular, a diploidia do DNA foi definida como a presença de um único pico G0-G1 com uma CV $\leq 7\%$, e um pico G2/M correspondente coletado de pelo menos 20.000 eventos totais. As FIG. 4A-4C apresentam os resultados, em que os tempos de exposição de 5 e 30 minutos são mostrados em barras brancas e pretas, respectivamente. A análise simultânea desses parâmetros foi realizada nas mesmas populações de células por citometria de fluxo usando: A) 7-aminoactinomicina D (7AAD); B) Anexina V-FITC; e C) Iodeto de propídio. As FIG. 4A-4C mostram os valores percentuais expressos como média \pm DP (n=3).

A viabilidade celular foi de 75% e 55% após uma exposição de 5 minutos à solução aquosa com ORP e ao HP, respectivamente (FIG. 4A). Caso a exposição fosse prolongada até 30 minutos, a viabilidade celular diminuía ainda mais até 60% e 5%, respectivamente. Aparentemente, a

solução aquosa com ORP induziu morte celular por meio de necrose, pois 15% das células incorporarão iodeto de propídio na análise por citometria de fluxo em ambos os tempos (FIG. 4C). A apoptose não parece ser o mecanismo pelo qual a solução aquosa com ORP induz morte celular, pois somente 3% das células tratadas com solução aquosa com ORP expuseram Anexina-V na superfície celular (um marcador de apoptose) (FIG. 4B). Essa percentagem foi, na verdade, similar àquela medida no grupo de controle. Por outro lado, HP induziu necrose em 20% e 75% das células tratadas e apoptose em 15% e 20% após 5 e 30 minutos de exposição, respectivamente. Em conjunto, esses resultados mostram que a solução aquosa com ORP (não diluída) é bem menos tóxica para HDFs do que uma concentração anti-séptica de HP.

15 **EXEMPLO 16**

Esse exemplo demonstra o efeito de uma solução aquosa com ORP exemplar em relação ao peróxido de hidrogênio (HP) sobre o dano oxidativo do DNA e a formação do aduto de DNA 8-hidróxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) em HDFs. Sabe-se que a produção de adutos de 8-OHdG em uma célula é um marcador de dano oxidativo em resíduos específicos de DNA. Além disso, níveis celulares elevados desse aduto estão correlacionados à mutagênese, carcinogênese e envelhecimento celular.

25 A FIG. 5 mostra os níveis de adutos de 8-OHdG presentes em amostras de DNA de HDFs após tratamentos de controle, tratamentos com solução aquosa com ORP e tratamentos com HP por 30 minutos. O DNA foi extraído logo após a exposição (T0, barras brancas) ou três horas após o período de ataque (T3, barras pretas). O DNA foi digerido e

30

os adutos de 8-OHdG foram medidos pelo kit de ELISA de acordo com as instruções do fabricante. Os valores são mostrados (ng/ml) como média \pm DP (n = 3). A exposição à solução aquosa com ORP por 30 minutos não aumentou a
5 formação de adutos nas células tratadas em comparação com células de controle após incubação por 30 minutos. Em contraste, o tratamento com 500 μ M de HP por 30 minutos aumentou o número de adutos de 8-OHdG em cerca de 25 vezes em relação às células tratadas de controle ou às células
10 tratadas com solução aquosa com ORP.

As células tratadas com solução aquosa com ORP foram capazes de diminuir os níveis de adutos de 8-OHdG se deixadas em DMEM suplementado por 3 horas após exposição à solução aquosa com ORP. Apesar de ter sido permitido o
15 mesmo período de recuperação de 3 horas, as células tratadas com HP ainda apresentavam cerca de 5 vezes mais adutos do que as células tratadas de controle ou que as células tratadas com solução aquosa com ORP. Em conjunto, esses resultados demonstram que a exposição aguda à solução
20 aquosa com ORP não induz dano oxidativo do DNA significativo. Esses resultados também indicam que a solução aquosa com ORP provavelmente não induzirá mutagênese ou carcinogênese *in vitro* ou *in vivo*.

EXEMPLO 17

25 Esse exemplo demonstra os efeitos sobre os HDFs da exposição crônica a concentrações baixas de uma solução aquosa com ORP exemplar versus HP. Sabe-se que o estresse oxidativo crônico induz envelhecimento prematuro das células. A fim de simular um estresse oxidativo prolongado,
30 culturas primárias de HDF foram expostas cronicamente a

concentrações baixas da solução aquosa com ORP (10%) ou HP (5 μ M) durante 20 duplicações da população. A expressão e a atividade da enzima SA- β -galactosidase foram associadas previamente ao processo de envelhecimento *in vivo* e *in vitro*. Nesse exemplo, a expressão da enzima SA- β -galactosidase foi analisada após um mês de exposição contínua de HDF à solução aquosa com ORP ou HP. Os resultados são apresentados na FIG. 6. A expressão da enzima SA- β -galactosidase foi analisada por contagem do número de células azuis em 20 campos microscópicos (para um exemplo do padrão de coloração, veja o Painel A). O Painel B mostra que apenas o tratamento com HP acelerou o envelhecimento das células, como indicado pelo número de células que superexpressam SA- β -galactosidase (n = 3). O tratamento crônico com uma dose baixa de HP aumentou a expressão de SA- β -Gal em 86% das células, enquanto o tratamento com a solução aquosa com ORP não induziu a superexpressão dessa proteína. Pode-se concluir a partir desse exemplo que a solução aquosa com ORP não é um indutor de envelhecimento celular prematuro.

EXEMPLO 18

Esse exemplo demonstra o efeito de uma solução aquosa com ORP exemplar sobre a redução da carga bacteriana peritoneal e sobre a redução na duração do período de internação hospitalar em pacientes com peritonite. Todos os pacientes internados no Hospital Ruben Lenero, na Cidade do México, de junho de 2004 a janeiro 2005, e com um diagnóstico de peritonite secundária aguda generalizada, foram incluídos no grupo tratado com a solução aquosa com ORP. Peritonite secundária foi definida como o resultado da

perda de integridade do trato gastrintestinal ou geniturinário que leva à contaminação do espaço peritoneal. A análise retrospectiva de casos pareados que apresentam infecções peritoneais similares entre 2003 e 2004 na mesma
5 Instituição foi efetuada para o grupo de controle. Vinte pacientes consecutivos foram incluídos de forma prospectiva no grupo tratado com a solução aquosa com ORP (ou seja, grupo de estudo).

Após a internação, todos os pacientes foram submetidos
10 à cirurgia aberta e lavagem peritoneal intra-operatória ("IOPL") de todos os quadrantes do abdome. Foram coletadas amostras intra-operatórias de cultura peritoneal em ambos os grupos. A IOPL foi realizada com 10 litros de soro fisiológico em ambos os grupos, seguida por 5 litros da
15 solução aquosa com ORP somente no grupo de estudo. O excesso de solução aquosa com ORP foi removido e não foi feito nenhum enxágüe adicional. A cavidade abdominal foi coberta com uma trama plástica em ambos os grupos. No entanto, no grupo de estudo, um curativo embebido em
20 solução aquosa com ORP foi deixado em cima da trama. O curativo era trocado três vezes ao dia. Uma terapia antimicrobiana empírica foi iniciada em todos os pacientes com dois antibióticos, incluindo clindamicina e cefotaxime ou amicacina. A conduta pós-operatória no grupo de estudo
25 incluía irrigação diária da trama com 100 ml da solução aquosa com ORP três vezes ao dia, sem enxágüe ou lavagem adicional. Os casos graves de peritonite necessitaram de nova laparotomia e IOPL a cada 72 horas. As culturas do líquido peritoneal para bactérias aeróbicas e fungos foram
30 coletadas a cada 72 horas em ambos os grupos por até uma

semana. Foi registrada a duração do período de internação hospitalar.

Vinte casos de controle foram selecionados dos prontuários médicos da Instituição e pareados ao grupo de estudo por idade, sexo e etiologia da peritonite. As populações de controle e de estudo eram comparáveis em termos de idade, sexo e fatores prognósticos na entrada. A origem anatômica e a etiologia da peritonite também eram similares para ambos os grupos (Tabela 6).

10 **Tabela 6. Diagnóstico primário de pacientes com peritonite.**

DIAGNÓSTICO	CONTROLE	ESTUDO	TOTAL	%
Apendicite	3	6	9	23,0
Pós-trauma	1	3	4	10,0
Pancreatite	6	3	9	23,0
Colecistite	1	2	3	7,5
Câncer de cólon	0	1	1	2,5
Fistula do intestino delgado	4	1	5	12,5
Diverticulite	1	1	2	5,0
Perfuração gástrica	4	0	4	10,0
Outra perfuração de órgão	0	2	2	5,0
Outras	0	1	1	2,5
TOTAL	20	20	40	100,0

Peritonite pós-operatória estava presente em 19 e 17 pacientes dos grupos de controle e de estudo, respectivamente. Todos os casos foram submetidos a tratamento cirúrgico, seguido por IOPL. Os tipos de cirurgias realizadas nos grupos de controle/de estudo

foram: apendicectomia (3/6), ressecção gástrica (4/0),
 colecistectomia (1/2), necrosectomia pancreática (6/3),
 suture/ ressecção do intestino delgado com anastomose
 (4/3), operação de Hartman (1/1); ressecção de cólon (0/1)
 5 e diversas (1/4). O uso de antibióticos foi muito similar
 em ambos os grupos. Para os grupos de controle e de estudo,
 foram administrados três antibióticos em 16 e 15 pacientes,
 e mais de 3 antibióticos em 4 e 5 casos, respectivamente.
 Os pacientes foram mantidos no CTI e foram ventilados
 10 mecanicamente no pós-operatório. Foram coletadas amostras
 intra-abdominais peroperatórias em todos os 40 pacientes
 (Tabela 7).

**Tabela 7. Microorganismos isolados de amostras
 intraperitoneais e duração do período de internação
 15 hospitalar em pacientes com peritonite.**

Organismo	GRUPO DE CONTROLE			GRUPO DE ESTUDO		
	Cepas isoladas (n)		Dias de hospital	Cepas isoladas (n)		Dias de hospital
	Perop	Pós-op		Perop	Pós-op	
<i>C. albicans</i>	10	7	19,4	7	0	6,3
<i>E. coli</i>	3	2	17,6	6	1	10,2
<i>S. aureus</i>	10	9	22,3	8	1	14,1
<i>Staph.</i> coagulase neg.	0	0	0	2	0	17,8
<i>A. baumannii</i>	0	0	0	1	0	22,4
<i>E. faecalis</i>	3	3	23,7	1	0	28,6
<i>A.</i> <i>xilosoxidans</i>	0	0	0	1	0	28,6
<i>P. aeruginosa</i>	2	2	24,0	3	0	33,9
<i>E. coacae</i>	1	1	13,0	1	0	37,0

TOTAL	29	24	31,9	30	2	22,4
--------------	----	----	------	----	---	------

Foram obtidas amostras no período peroperatório e na semana seguinte após lavagem intra-operatória apenas com soro fisiológico (grupo de controle) ou com soro fisiológico e solução aquosa com ORP (grupo de estudo). A
 5 internação hospitalar média foi então analisada para cada microorganismo isolado na entrada e para o grupo inteiro.

Os números médios de microorganismos que cresceram nessas amostras foram de 29 no grupo de controle e de 30 no grupo de estudo. Os microorganismos isolados são mostrados
 10 na Tabela 8. *Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos foram isolados desses grupos em 3/6, 4/2, 10/8, 2/3 e 10/7 ocasiões, respectivamente. Culturas positivas para *A. xilosoxidans* (1), estafilococos coagulase-negativos (2) e *A. baumannii*
 15 (1) só foram encontrados no grupo de estudo.

Uma segunda cultura intra-abdominal foi coletada durante a primeira semana após a cirurgia (Tabela 7). Nesse momento, o número médio de organismos isolados no grupo de controle (24) foi quase o mesmo que na amostra
 20 peroperatória (29). É importante destacar que houve uma forte redução no número de amostras positivas no grupo de estudo. De 30 culturas positivas nas amostras peroperatórias, somente uma permaneceu positiva para *S. aureus* e outra para *E. coli*. Na análise de dias de
 25 hospitalização, o grupo de controle teve uma permanência mais longa (31,9 dias) em comparação com o grupo de estudo (22,4 dias). Dessa forma, a solução aquosa com ORP reduziu eficazmente a carga bacteriana peritoneal e duração do período de internação hospitalar em pacientes com

peritonite.

As taxas de mortalidade também foram analisadas. Houve seis mortes no grupo de controle e 3 no de estudo. Todas as mortes ocorreram nos primeiros 30 dias após a primeira
5 cirurgia, e o risco relativo calculado foi maior para o grupo de controle (ou seja, 3,3 versus 0). No entanto, o tamanho da amostra era muito pequeno para ter significância estatística. Não foram registrados efeitos colaterais locais com o uso de água com ORP na IOPL. Os pacientes
10 sobreviventes no grupo de estudo foram acompanhados por 6 a 12 meses. Nenhum dos 20 pacientes no Grupo tratado com água com ORP apresentou oclusão intestinal ou dados que sugeriram peritonite esclerosante no período de acompanhamento.

EXEMPLO 19

Esse exemplo demonstra a eficácia de uma solução aquosa com ORP exemplar (Microcyn) na inibição da degranulação de mastócitos. Mastócitos foram reconhecidos como os principais participantes em distúrbios da hipersensibilidade do tipo I. Vários sintomas clínicos
15 observados na dermatite atópica, rinite alérgica e asma atópica são produzidos por estimulação de IgE-antígeno de mastócitos localizados em distintos tecidos afetados. A visão aceita atualmente da patogênese da asma atópica é de que alérgenos iniciam o processo pelo acionamento de
20 mastócitos pulmonares que abrigam IgE (MCs) para a liberação de mediadores como, por exemplo, histamina, leucotrienos, prostaglandinas, cininas, fator de ativação de plaquetas (PAF) etc. na denominada fase inicial da reação. Por sua vez, esses mediadores induzem
25 broncoconstrição e aumentam a permeabilidade vascular e a
30

produção de muco. De acordo com esse modelo, após a
ativação de mastócitos, aquelas células secretam várias
citocinas pró-inflamatórias, incluindo fator de necrose
tumoral alfa (TNF- α), IL-4, IL-5 e IL-6, que participam no
5 recrutamento e na ativação locais de outras células
inflamatórias como, por exemplo, eosinófilos, basófilos,
linfócitos T, plaquetas e fagócitos mononucleares. Essas
células recrutadas, por sua vez, contribuem para o
desenvolvimento de uma resposta inflamatória que pode então
10 se tornar autônoma e agravar os sintomas asmáticos. Essa
resposta da fase tardia constitui um processo de inflamação
de longo prazo que pode induzir alterações plásticas em
tecidos circundantes (veja Kumar e cols., pp. 193-268). Em
modelos experimentais de peritonite em camundongos, também
15 foi demonstrado que a fonte principal de citocinas pró-
inflamatórias na cavidade peritoneal é o mastócito. Essas
citocinas são relevantes, pois induzem a formação de
adesões, abscessos, síndrome da resposta inflamatória
sistêmica (SIRS) e falência múltipla dos órgãos.

20 A estimulação antigênica de mastócitos ocorre por meio
da ativação do receptor de alta afinidade por IgE (o
receptor Fc ϵ RI), que é uma proteína multimérica que se liga
a IgE e subseqüentemente pode ser agregada pela interação
da IgE ligada ao receptor com um antígeno específico. Sua
25 estrutura compreende quatro polipeptídeos, uma cadeia α de
ligação de IgE, uma cadeia β que serve para amplificar sua
capacidade de sinalização e duas cadeias γ ligadas por
dissulfeto, que são os principais condutores de sinal
através do motivo de ativação baseado no imunorreceptor
30 baseado em tirosina (ITAM) codificado. As vias de

sinalização ativadas pelo entrecruzamento desse receptor foram caracterizadas com o uso de mastócitos derivados da medula óssea (BMMC), da linhagem de células de leucemia de ratos RBL 2H3, mastócitos peritoneais de camundongos e ratos e de outras linhagens de mastócitos como, por exemplo, MC-9. Em todas elas, a presença de antígeno ligado a IgE causa degranulação de mastócitos, mobilização de cálcio, rearranjos citoesqueléticos e ativação de diferentes fatores de transcrição (NFAT, NF κ B, AP-1, PU.1, SP1, Ets etc.) que ativam a transcrição do gene de citocina, que culminam com a produção de citocina.

BMMCs murídeos maduros foram carregados com uma IgE monoclonal anti-dinitrofenol (300 ng/milhão de células) durante 4 horas a 37°C. O meio de cultura foi removido e as células foram re-suspensas em tampão fisiológico (tampão de Tyrode/BSA). As células foram então tratadas por 15 minutos a 37°C com concentrações distintas da solução aquosa com ORP (em sua modalidade Microcyn). O tampão foi removido e as células re-suspensas em tampão de Tyrode/BSA fresco, e estimuladas com diferentes concentrações de antígeno (albumina humana acoplada a dinitrofenol) durante uma incubação de 30 minutos a 37°C. A degranulação foi medida por determinação da atividade de β -hexosaminidase em sobrenadantes e péletes das células estimuladas, usando uma reação colorimétrica baseada na capacidade dessa enzima para hidrolisar distintos carboidratos (foi demonstrado que a β -hexosaminidase está localizada nos mesmos grânulos que contêm histamina em mastócitos). Os resultados (FIG. 7) demonstram que a degranulação é significativamente reduzida com concentrações crescentes da solução aquosa com ORP.

Surpreendentemente, o efeito inibidor da solução aquosa com ORP (Microcyn) sobre a degranulação de mastócitos é pelo menos similar àquele observado com o "estabilizador de mastócitos" clinicamente eficaz e o composto antialérgico estabelecido cromoglicato de sódio (Intel™). A degranulação foi novamente medida por atividade enzimática de β -hexosaminidase no pélete e no sobrenadante de células estimuladas, com o uso de uma reação colorimétrica baseada na capacidade dessa enzima para hidrolisar distintos carboidratos. Células carregadas com IgE monoclonal anti-DNP foram estimuladas com ou sem uma pré-incubação de 15 minutos com cromoglicato de sódio (Intel™). O cromoglicato não foi mais eficaz do que a solução aquosa com ORP na redução de degranulações (compare a FIG.7 com a FIG. 8; ambos obtendo pelo menos cerca de 50% de redução da degranulação).

EXEMPLO 20

Esse exemplo demonstra a atividade inibidora de uma solução aquosa com ORP exemplar sobre a ativação de mastócitos por um ionóforo de cálcio.

Os mastócitos podem ser estimulados por meio da ativação de fluxos de cálcio induzidos por um ionóforo de cálcio. As vias de sinalização ativadas por ionóforos de cálcio foram caracterizadas com o uso de mastócitos derivados da medula óssea (BMDC), da linhagem de células de leucemia de ratos RBL 2H3, de mastócitos peritoneais de camundongos e ratos, e de outras linhagens de mastócito como, por exemplo, MC-9. Em todos esses sistemas, a mobilização de cálcio causa a degranulação de mastócitos (por exemplo, liberação de histamina), rearranjos

citoesqueléticos e ativação de diferentes fatores de transcrição (por exemplo, NFAT, NFκB, AP-1, PU.1, SP1, Ets.), que ativam a transcrição do gene de citocina, que culminam com a produção e secreção de citocina.

5 Mastócitos murídeos maduros derivados da medula óssea (BMMC) foram carregados com uma IgE monoclonal anti-dinitrofenol (300 ng/milhão de células) durante 4 horas a 37°C. O meio de cultura foi removido e as células foram re-suspensas em tampão fisiológico (tampão de Tyrode/BSA). As
10 células foram então tratadas por 15 minutos a 37°C com concentrações distintas da solução aquosa com ORP (em sua modalidade Microcyn). O tampão foi removido e as células re-suspensas em tampão de Tyrode/BSA fresco, e estimuladas com ionóforo de cálcio (100 mM A23187) durante uma
15 incubação de 30 minutos a 37°C. A degranulação foi medida por determinação da atividade de β-hexosaminidase em sobrenadantes e péletes das células estimuladas, usando uma reação colorimétrica baseada na capacidade dessa enzima para hidrolisar distintos carboidratos (foi demonstrado que
20 a β-hexosaminidase está localizada nos mesmos grânulos que contêm histamina em mastócitos). Os resultados (FIG. 9) demonstram que a degranulação é significativamente reduzida com concentrações crescentes da solução aquosa com ORP.

Esses resultados sugerem que a solução aquosa com ORP
25 é um inibidor não específico da liberação de histamina. Dessa forma, a solução aquosa com ORP - mesmo em diferentes concentrações - inibirá a degranulação de mastócitos, independentemente do estímulo (por exemplo, antígeno ou ionóforo). Sem se prender a nenhuma teoria em particular, a
30 solução aquosa com ORP provavelmente modifica o sistema da

via secretora no nível da membrana plasmática e/ou do citoesqueleto. Como o mecanismo de ação da solução aquosa com ORP supostamente é inespecífico, acredita-se que a solução aquosa com ORP possa ter amplas aplicações clínicas
5 potenciais.

EXEMPLO 21

Esse exemplo demonstra o efeito de uma solução aquosa com ORP exemplar sobre a ativação de transcrição do gene de citocina de mastócitos.

10 As FIGS. 10A e 10B são ensaios de proteção de RNAase de mastócitos tratados com solução aquosa com ORP em diferentes concentrações por 15 minutos, e ainda estimulados por antígeno, como descrito no Exemplo 19. Após estimulação, o mRNA foi extraído com o uso de colunas de
15 cromatografia por afinidade (kit RNAeasy, Qiagene) e o ensaio de proteção de RNAase foi realizado com o uso das condições-padrão do kit (Clontech, Becton & Dickinson), a fim de detectar a produção de mRNA de distintas citocinas após ataque com antígeno. As citocinas incluíam TNF- α , LIF,
20 IL-13, M-CSF, IL6, MIF e L32.

As FIGS. 10A e 10B mostram que a solução aquosa com ORP (Microcyn) não modificou os níveis de mRNA de citocina após ataque com antígeno em mastócitos, independentemente das concentrações de solução aquosa com ORP ou de antígeno
25 usadas para o experimento.

Nesse estudo, o nível de transcritos (ou seja, o teor de RNA de mastócitos estimulados) de genes pró-inflamatórios não foi alterado em mastócitos tratados com solução aquosa com ORP após serem estimulados com várias
30 concentrações de antígeno. Dessa forma, a solução aquosa

com ORP inibiu a via secretora dessas citocinas, sem afetar sua transcrição.

EXEMPLO 22

Esse exemplo demonstra a atividade inibidora de uma
5 solução aquosa com ORP exemplar sobre a secreção de TNF- α
por mastócitos.

Os mastócitos foram tratados com diferentes
concentrações de solução aquosa com ORP por 15 minutos, e
ainda estimulados por antígeno, como descrito no Exemplo
10 19. A seguir, o meio de cultura de tecido foi substituído,
e as amostras do meio fresco foram coletadas em vários
períodos de tempo (2-8 horas) para medida dos níveis de
TNF- α . As amostras foram congeladas e posteriormente
15 analisadas com um kit ELISA comercial (Biosource) de acordo
com as instruções do fabricante.

A FIG. 11 mostra que o nível de TNF- α secretada no
meio por células tratadas com solução aquosa com ORP após
estimulação com antígeno é significativamente diminuído, em
comparação com as células não tratadas.

20 Dessa forma, a solução aquosa com ORP inibiu a
secreção de TNF- α por mastócitos estimulados antígeno.
Esses resultados estão de acordo com observações clínicas
de que o uso de soluções de água com ORP pode diminuir a
reação inflamatória em várias feridas após procedimentos
25 cirúrgicos.

EXEMPLO 23

Esse exemplo demonstra a atividade inibidora de uma
solução aquosa com ORP exemplar sobre a secreção de MIP1- α
por mastócitos.

30 Os mastócitos foram tratados com diferentes

concentrações de uma solução aquosa com ORP exemplar (Microcyn) por 15 minutos, e ainda estimulados por antígeno, como descrito no Exemplo 19. A seguir, o meio de cultura do tecido foi substituído, e as amostras do meio fresco foram coletadas em vários períodos de tempo (2-8 horas) para medida dos níveis de MIP1- α . As amostras foram congeladas e posteriormente analisadas com um kit ELISA comercial (Biosource) de acordo com as instruções do fabricante.

10 A FIG. 12 mostra que o nível de MIP1- α secretado no meio por células tratadas com solução aquosa com ORP após antígeno estimulação foi significativamente diminuído, em comparação com as células não tratadas.

Dessa forma, a solução aquosa com ORP inibiu a secreção de MIP1- α por mastócitos estimulados por antígeno. Esses resultados estão de acordo com observações clínicas de que o uso de soluções de água com ORP pode diminuir a reação inflamatória em várias feridas após procedimentos cirúrgicos.

20 Os resultados de estudos análogos que medem a secreção de IL-6 e de IL-13 são apresentados nas FIGS. 13 e 14.

Os Exemplos 20-23 e esse exemplo demonstram ainda que a solução aquosa com ORP é capaz de inibir respostas alérgicas da fase inicial e tardia iniciadas pelo entrecruzamento do receptor de IgE.

EXEMPLO 24

Esse exemplo demonstra os resultados de um estudo de toxicidade que utiliza uma solução aquosa com ORP exemplar.

Foi feito um estudo de toxicidade aguda sistêmica em camundongos para determinar a toxicidade sistêmica

30

potencial de uma solução aquosa com ORP exemplar, Microcyn 60. Uma dose única (50 ml/kg) de Microcyn 60 foi injetada por via intraperitoneal em cinco camundongos. Cinco camundongos de controle foram injetados com uma dose única (50 ml/kg) de soro fisiológico (cloreto de sódio 0,9%). Todos os animais foram observados quanto à mortalidade e reações adversas imediatamente após a injeção, com 4 horas após a injeção e, a seguir, uma vez ao dia por 7 dias. Todos os animais também foram pesados antes da injeção e novamente no 7º Dia. Não houve mortalidade durante o estudo. Todos os animais pareciam clinicamente normais por todo o estudo. Todos os animais ganharam peso. A LD₅₀ intraperitoneal aguda estimada de Microcyn 60 por esse estudo é acima de 50 ml/kg. Esse exemplo demonstra que Microcyn 60 não possui toxicidade significativa e deve ser segura para uso terapêutico de acordo com a invenção.

EXEMPLO 25

Esse exemplo ilustra um estudo realizado para determinar a toxicidade citogenética potencial de uma solução aquosa com ORP exemplar.

Foi feito um teste de micronúcleo com o uso de uma solução aquosa com ORP exemplar (10% Microcyn) para avaliar o potencial mutagênico da injeção intraperitoneal de uma solução aquosa com ORP em camundongos. O teste de micronúcleo de mamífero *in vivo* é usado para a identificação de substâncias que causam dano aos cromossomos ou ao aparelho mitótico de eritrócitos policromáticos murídeos. Esse dano resulta a formação de "micronúcleos", estruturas intracelulares que contêm fragmentos de cromossomo lagging ou cromossomos inteiros

isolados. O estudo da solução aquosa com ORP incluiu 3 grupos de 10 camundongos cada (5 machos/5 fêmeas): um grupo de teste, dosado com a solução aquosa com ORP; um grupo de controle negativo, dosado com a solução de NaCl 0,9%; e um grupo de controle positivo, dosado com uma solução mutagênica de ciclofosfamida. Os grupo de teste e o grupo de controle negativo receberam uma injeção intraperitoneal (12,5 ml/kg) da solução aquosa com ORP ou solução de NaCl 0,9%, respectivamente, por dois dias consecutivos (1° e 2° dias). Os camundongos de controle positivo receberam uma única injeção intraperitoneal de ciclofosfamida (8 mg/ml, 12,5 ml/kg) no 2° dia. Todos os camundongos foram observados imediatamente após a injeção quanto a quaisquer reações adversas. Todos os animais pareciam clinicamente normais por todo o estudo e não foi observado nenhum sinal de toxicidade em qualquer grupo. No 3° dia, todos os camundongos foram pesados e sacrificados.

Os fêmures foram removidos dos camundongos sacrificados, a medula óssea foi extraída e foram feitos esfregaços em duplicata para cada camundongo. As lâminas da medula óssea para cada animal foram lidas com um aumento de 40X. A proporção de eritrócitos policromáticos (PCE) para eritrócitos normocromáticos (NCE), um índice de toxicidade da medula óssea, foi determinado para cada camundongo por contagem de um total de pelo menos 200 eritrócitos. A seguir, um mínimo de 2.000 PCE classificáveis por camundongo foi avaliado quanto à incidência de eritrócitos policromáticos micronucleados. A análise estatística dos dados foi feita com a utilização do teste de Mann e Whitney (em um limiar de risco de 5%) por uma suíte de programas

estatísticos (Statview 5.0, SAS Institute Inc., EUA).

Os camundongos de controle positivo tiveram proporções PCE/NCE menores estatisticamente significativas, quando comparados com seus respectivos controles negativos
5 (machos: 0,77 vs. 0,90 e fêmeas: 0,73 vs. 1,02), evidenciando a toxicidade da ciclofosfamida sobre a medula óssea tratada. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa das proporções PCE/NCE para os camundongos tratados com a solução aquosa com ORP e os
10 controles negativos. Da mesma forma, camundongos de controle positivo tiveram um número maior estatisticamente significativo de eritrócitos policromáticos que possuem micronúcleos, quando comparados tanto com os camundongos tratados com a solução aquosa com ORP (machos: 11,0 vs.
15 1,4/fêmeas: 12,6 vs. 0,8) quanto com os controles negativos (machos: 11,0 vs. 0,6 /fêmeas: 12,6 vs. 1,0). Não houve diferença estatisticamente significativa entre o número de eritrócitos policromáticos que possuem micronúcleos em camundongos tratados com a solução aquosa com ORP e de
20 controle negativo.

Esse exemplo demonstra que Microcyn™ 10% não induziu toxicidade ou efeitos mutagênicos após injeções intraperitoneais em camundongos.

EXEMPLO 26

25 Esse estudo demonstra a ausência de toxicidade de uma solução aquosa com ORP exemplar, Dermacyn.

Esse estudo foi feito de acordo com o padrão ISO 10993-5:1999 para determinar o potencial de uma solução aquosa com ORP exemplar, Dermacyn, para causar
30 citotoxicidade. Um disco de filtro com 0,1 ml de Dermacyn

foi colocado sobre uma superfície de agarose, cobrindo diretamente uma monocamada de células fibroblásticas de camundongos (L-929). As amostras preparadas foram observadas quanto ao dano citotóxico após 24 horas de incubação a 37°C, na presença de CO₂ 5%. As observações foram comparadas com amostras de controle positivo e negativo. As amostras que contêm Dermacyn não revelaram qualquer evidência de lise celular ou de toxicidade, enquanto os controles positivo e negativo tiveram o desempenho que era antecipado.

Com base nesse estudo, concluiu-se que Dermacyn não gera efeitos citotóxicos sobre fibroblastos murídeos.

EXEMPLO 27

Esse estudo foi realizado com 16 ratos para avaliar a tolerabilidade local de uma solução aquosa com ORP exemplar, Dermacyn, e seus efeitos sobre a histopatologia de leitos de feridas em um modelo de cicatrização de ferida de espessura total. As feridas foram feitas em ambos os lados do rato em questão. Durante o processo de cicatrização, foram retirados cortes de pele do lado esquerdo ou direito (por exemplo, tratado com Dermacyn e tratado com soro fisiológico, respectivamente).

Os cortes corados com tricromo de Masson e os cortes corados com Colágeno do Tipo II dos locais de feridas cirúrgicas tratados com Dermacyn e com soro fisiológico foram avaliados por um patologista veterinário credenciado. Os cortes foram testados quanto à quantidade de expressão Colágeno do Tipo 2 como uma manifestação de proliferação de tecido conjuntivo, morfologia de fibroblastos e formação de colágeno, presença de neoepiderme no corte transversal,

inflamação e extensão de ulceração dérmica.

Os achados indicam que Dermacyn foi bem tolerada em ratos. Não houve lesões histopatológicas relacionadas ao tratamento nos cortes de pele das feridas de ambos os lados (tratadas com Dermacyn e tratadas com soro fisiológico, respectivamente). Não houve diferenças histopatológicas relevantes entre os locais de feridas tratados com soro fisiológico e os com Dermacyn, indicando que o tratamento com Dermacyn foi bem tolerado. Não houve diferenças significativas entre a expressão de Colágeno do Tipo 2 entre os locais de ferida tratados com soro fisiológico e os tratados com Dermacyn, indicando que Dermacyn não possui um efeito adverso sobre fibroblastos ou sobre a elaboração de colágeno durante o processo de cicatrização de feridas.

15 **EXEMPLO 28**

Esse exemplo demonstra o uso de uma água com potencial de oxirredução exemplar, Microcyn, de acordo com a invenção como uma solução antimicrobiana eficaz.

Foi realizada uma avaliação *Time-Kill in vitro* com o uso da água com potencial de oxirredução Microcyn. Microcyn foi avaliada versus suspensões de ataque de cinquenta cepas de microorganismos diferentes - vinte e cinco cepas da "American Type Culture Collection" (ATCC) e vinte e cinco isolados clínicos daquelas mesmas espécies - como descrito na "Tentative Final Monograph, Federal Register", 17 de junho de 1994, vol. 59: 116, pg. 31.444. As reduções percentuais e as reduções Log10 da população inicial de cada cepa de ataque foram determinadas após exposições à Microcyn por trinta (30) segundos, um (1) minuto, três (3) minutos, cinco (5) minutos, sete (7) minutos, nove (9)

minutos, onze (11) minutos, treze (13) minutos, quinze (15) minutos e vinte (20) minutos. Todo o plaqueamento em ágar foi feito em duplicata, e a Microcyn foi avaliada em uma concentração de 99% (v/v). Todos os testes foram realizados de acordo com "Good Laboratory Practices", como especificado em 21 C.F.R. Parte 58.

A tabela a seguir resume os resultados da avaliação *Time-Kill in vitro* mencionada acima na marca da exposição de trinta segundos para todas as populações testadas, que foram reduzidas em mais de 5,0 Log₁₀:

Tabela 8. Morte em 30 segundos *in vitro*.

Nº	Espécie de microorganismo	População inicial (CFU/ml)	População pós-exposição (CFU/ml)	Redução Log ₁₀	Redução percentual
1	<i>Acinetobacter baumannii</i> (ATCC N°: 19003)	2,340 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,3692	99,9999
2	<i>Acinetobacter baumannii</i> Isolado clínico BSLI #061901Ab3	1,8150 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,2589	99,9999
3	<i>Bacteroides fragilis</i> (ATCC N°: 43858)	4,40 x 10 ¹⁰	< 1,00 x 10 ³	7,6435	99,9999
4	<i>Bacteroides</i>	2,70 x 10 ¹⁰	< 1,00 x 10 ³	7,4314	99,9999

	<i>fragilis</i> Isolado clínico BSLI #061901Bf6				
5	<i>Candida albicans</i> (ATCC N°: 10.231)	2,70 x 10 ¹⁰	< 1,00 x 10 ³	6,3345	99,9999
6	<i>Candida albicans</i> Isolado clínico BSLI #042905Ca	5,650 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,7520	99,9999
7	<i>Enterobacter aerogenes</i> (ATCC N°: 29007)	1,2250 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,0881	99,9999
8	<i>Enterobacter aerogenes</i> Isolado clínico BSLI #042905Ea	1,0150 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,0065	99,9999
9	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC N°: 29.212)	2,610 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,4166	99,9999
10	<i>Enterococcus</i>	1,2850 x	< 1,00 x 10 ³	6,1089	99,9999

	<i>faecalis</i> Isolado clínico BSLI #061901Efs2	10 ⁹			
11	<i>Enterococcus faecium</i> VRE, (ATCC 51.559)	MDR 3,250 x 10 ⁹ N°:	< 1,00 x 10 ³	6,5119	99,9999
12	<i>Enterococcus faecium</i> Isolado clínico BSLI #061901Efm1	1,130 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,0531	99,9999
13	<i>Escherichia coli</i> (ATCC N°: 11.229)	5,00 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,6990	99,9998
14	<i>Escherichia coli</i> Isolado clínico BSLI #042905Ec1.	3,950 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,5966	99,9997
15	<i>Escherichia coli</i> (ATCC N°: 25.922)	6,650 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,8228	99,9998
16	<i>Escherichia coli</i>	7,40 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,8692	99,9998

	Isolado clínico BSLI #042905Ec2				
17	<i>Haemophilus influenzae</i> (ATCC N°: 8149)	1,5050 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ⁴	5,1775	99,9993
18	<i>Haemophilus influenzae</i> Isolado clínico BSLI #072605Hi	1,90 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ⁴	5,2788	99,9995
19	<i>Klebsiella oxytoca</i> MDR (ATCC N°: 15.764)	1,120 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,0492	99,9999
20	<i>Klebsiella oxytoca</i> Isolado clínico BSLI #061901Ko1	1,810 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,2577	99,9999
21	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>ozaenae</i> (ATCC N°:	1,390 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,1430	99,9999

	29.019)				
22	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Isolado clínico BSLI #061901Kpn2	9,950 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,9978	99,9999
23	<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC N°: 7.468)	6,950 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,8420	99,9999
24	<i>Micrococcus luteus</i> Isolado clínico BSLI #061901M12	1,5150 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,1804	99,9999
25	<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC N°: 7.002)	1,5950 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,2028	99,9999
26	<i>Proteus mirabilis</i> Isolado clínico BSLI #061901Pm2	2,0950 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,3212	99,9999
27	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N°:	6,450 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,8096	99,9999

	15.442)				
28	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolado clínico BSLI #072605Pa	1,3850 10^9	x < 1,00 x 10 ³	6,1414	99,9999
29	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC N°: 27.853)	5,550 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,7443	99,9999
30	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolado clínico BSLI #061901Pa2	1,1650 10^9	x < 1,00 x 10 ³	6,0663	99,9999
31	<i>Serratia marcescens</i> (ATCC N°: 14.756)	9,950 x 10 ⁸	< 1,00 x 10 ³	5,9978	99,9999
32	<i>Serratia marcescens</i> Isolado clínico BSLI #042905Sm	3,6650 10^9	x < 1,00 x 10 ³	6,5641	99,9999
33	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N°:	1,5050 10^9	x < 1,00 x 10 ³	6,1775	99,9999

	6.538)				
34	<i>Staphylococcus aureus</i> Isolado clínico BSLI #061901Sa1	$1,250 \times 10^9$	$< 1,00 \times 10^3$	6,0969	99,9999
35	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC N°: 29.213)	$1,740 \times 10^9$	$< 1,00 \times 10^3$	6,2405	99,9999
36	<i>Staphylococcus aureus</i> Isolado clínico BSLI #061901Sa2	$1,1050 \times 10^9$	$< 1,00 \times 10^3$	6,0434	99,9999
37	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC N°: 12.228)	$1,0550 \times 10^9$	$< 1,00 \times 10^3$	6,0233	99,9999
38	<i>Staphylococcus epidermidis</i> Isolado clínico BSLI #072605Se	$4,350 \times 10^8$	$< 1,00 \times 10^3$	5,6385	99,9998
39	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	$8,150 \times 10^8$	$< 1,00 \times 10^3$	5,9112	99,9999

	(ATCC N°: 29.970)				
40	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> Isolado clínico BSLI #042905Sha	$8,350 \times 10^8$	$< 1,00 \times 10^3$	5,9217	99,9999
41	<i>Staphylococcus hominis</i> (ATCC N°: 27844)	$2,790 \times 10^8$	$< 1,00 \times 10^3$	5,4456	99,9996
42	<i>Staphylococcus hominis</i> Isolado clínico BSLI #042905Sho	$5,20 \times 10^8$	$< 1,00 \times 10^3$	5,7160	99,9998
43	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ATCC N°: 35552)	$9,10 \times 10^8$	$< 1,00 \times 10^3$	5,9590	99,9999
44	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> Isolado clínico BSLI	$1,4150 \times 10^9$	$< 1,00 \times 10^3$	6,1508	99,9999

	#042905Ss				
45	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC N°: 33.400)	2,1450 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ⁴	5,3314	99,9995
46	<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC N°: 19615)	5,20 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,7160	99,9999
47	<i>Streptococcus pyogenes</i> Isolado clínico BSLI #061901 Spy7	2,5920 x 10 ⁹	< 1,00 x 10 ³	6,4141	99,9999

Embora suas reduções microbianas tenham sido medidas em menos de 5,0 Log₁₀, Microcyn também demonstrou atividade antimicrobiana contra as três espécies restantes não incluídas na Tabela 8. Mais especificamente, uma exposição de trinta segundos à Microcyn reduziu a população de *Streptococcus pneumoniae* (Isolado clínico; BSLI #072605Spn1) em mais de 4,5 Log₁₀, que era o limite de detecção versus essa espécie. Além disso, quando atacado com *Candida tropicalis* (ATCC N°: 750), Microcyn demonstrou uma redução microbiana em mais de 3,0 Log₁₀ após uma exposição de trinta segundos. Adicionalmente, quando atacada com *Candida tropicalis* (BSLI #042905Ct), Microcyn demonstrou uma redução microbiana em mais de 3,0 Log₁₀ após uma exposição de vinte minutos.

Os resultados exemplares dessa avaliação *Time-Kill in*

vitro demonstram que a água com potencial de oxirredução Microcyn exibe atividade antimicrobiana rápida (ou seja, menos de 30 segundos na maioria dos casos) versus um amplo espectro de microorganismos de ataque. As populações 5 microbianas de quarenta e sete de cinquenta espécies Gram-positivas, Gram-negativas e de leveduras avaliadas foram reduzidas em mais de 5,0 Log₁₀ em um intervalo de até trinta segundos de exposição ao produto.

EXEMPLO 29

10 Esse exemplo demonstra uma comparação da atividade antimicrobiana de uma água com potencial de oxirredução exemplar, Microcyn, usada de acordo com a invenção, versus solução de gluconato de clorexidina 4,0% (p/v) HIBICLENS® e irrigação de cloreto de sódio 0,9% (USP).

15 Foi realizada uma avaliação *Time-Kill in vitro*, como descrito no Exemplo 28, com a utilização de solução de gluconato de clorexidina 4,0% (p/v) HIBICLENS® e uma solução de irrigação estéril de cloreto de sódio 0,9% (USP) como produtos de referência. Cada produto de referência foi 20 avaliado versus suspensões das dez cepas da "American Type Culture Collection" (ATCC) especificamente citadas na "Tentative Final Monograph". Os dados coletados foram então analisados contra a atividade de redução microbiana Microcyn registrada no Exemplo 28.

25 A água com potencial de oxirredução Microcyn reduziu as populações microbianas de cinco das cepas de ataque a um nível comparável àquele observado para a solução de gluconato de clorexidina HIBICLENS®. Tanto Microcyn quanto HIBICLENS® geraram uma redução microbiana de mais de 5,0 30 Log₁₀ após uma exposição de trinta segundos às seguintes

espécies: *Escherichia coli* (ATCC N°: 11.229 e ATCC N°: 25.922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N°: 15.442 e ATCC N°: 27.853) e *Serratia marcescens* (ATCC N°: 14.756). Além disso, como mostrado acima na Tabela 8, Microcyn demonstrou excelente atividade antimicrobiana contra *Micrococcus luteus* (ATCC N°: 7.468) ao gerar uma redução de 5,8420 Log₁₀ após uma exposição de trinta segundos. No entanto, uma comparação direta da atividade de *Micrococcus luteus* (ATCC N°: 7468) com HIBICLENS® não foi possível porque, após uma exposição de trinta segundos, HIBICLENS® reduziu a população pelo limite de detecção do teste (nesse caso específico, em mais de 4,8 Log₁₀). Observa-se que a solução de irrigação estéril de cloreto de sódio 0,9% reduziu as populações microbianas de cada uma das seis cepas de ataque discutidas acima por menos de 0,3 Log₁₀ após uma exposição completa de vinte minutos.

A água com potencial de oxirredução Microcyn forneceu uma atividade antimicrobiana maior do que HIBICLENS® e do que a irrigação com cloreto de sódio para quatro das cepas de ataque testadas: *Enterococcus faecalis* (ATCC N°: 29.212), *Staphylococcus aureus* (ATCC N°: 6.538 e ATCC N°: 29.213) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC N°: 12.228). A tabela a seguir resume os resultados da redução microbiana da avaliação *Time-Kill in vitro* para essas quatro espécies:

Tabela 9. Resultados comparativos

Espécie de microorganismo	Tempo de exposição	Redução Log ₁₀		
		Microcyn	HIBICLENS	Irrigação com NaCl
<i>Enterococcus faecalis</i>	30 segundos	6,4166	1,6004	0,3180
	1 minuto	6,4166	2,4648	0,2478

(ATCC 29.212)	Nº:	3 minutos	6,4166	5,2405	0,2376
		5 minutos	6,4166	5,4166	0,2305
		7 minutos	6,4166	5,4166	0,2736
		9 minutos	6,4166	5,4166	0,2895
		11 minutos	6,4166	5,4166	0,2221
		13 minutos	6,4166	5,4166	0,2783
		15 minutos	6,4166	5,4166	0,2098
		20 minutos	6,4166	5,4166	0,2847
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6.538)	Nº:	30 segundos	6,1775	1,1130	0,0000
		1 minuto	6,1775	1,7650	0,0191
		3 minutos	6,1775	4,3024	0,0000
		5 minutos	6,1775	5,1775	0,0000
		7 minutos	6,1775	5,1775	0,0000
		9 minutos	6,1775	5,1775	0,0000
		11 minutos	6,1775	5,1775	0,0267
		13 minutos	6,1775	5,1775	0,0000
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29.213)	Nº:	15 minutos	6,1775	5,1775	0,0191
		20 minutos	6,1775	5,1775	0,0000
		30 segundos	6,2405	0,9309	0,0000
		1 minuto	6,2405	1,6173	0,0000
		3 minutos	6,2405	3,8091	0,0460
		5 minutos	6,2405	5,2405	0,0139
		7 minutos	6,2405	5,2405	0,0000
		9 minutos	6,2405	5,2405	0,0113
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29.213)	Nº:	11 minutos	6,2405	5,2405	0,0283
		13 minutos	6,2405	5,2405	0,0000
		15 minutos	6,2405	5,2405	0,0000
		20 minutos	6,2405	5,2405	0,0615
		30 segundos	5,6385	5,0233	0,0456

epidermidis (ATCC N°: 12.228)	1 minuto	5,6385	5,0233	0,0410
	3 minutos	5,6385	5,0233	0,0715
	5 minutos	5,6385	5,0233	0,0888
	7 minutos	5,6385	5,0233	0,0063
	9 minutos	5,6385	5,0233	0,0643
	11 minutos	5,6385	5,0233	0,0211
	13 minutos	5,6385	5,0233	0,1121
	15 minutos	5,6385	5,0233	0,0321
	20 minutos	5,6385	5,0233	0,1042

Os resultados dessa avaliação *Time-Kill in vitro* comparativa demonstram que a água com potencial de oxirredução Microcyn não apenas exibe atividade antimicrobiana comparável com HIBICLENS® contra *Escherichia coli* (ATCC N°: 11.229 e ATCC N°: 25.922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC N°: 15.442 e ATCC N°: 27.853), *Serratia marcescens* (ATCC N°: 14.756) e *Micrococcus luteus* (ATCC N°: 7.468), mas fornece um tratamento mais eficaz contra *Enterococcus faecalis* (ATCC N°: 29.212), *Staphylococcus aureus* (ATCC N°: 6.538 e ATCC N°: 29.213) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC N°: 12.228). Como mostrado na Tabela 9, Microcyn exemplifica uma resposta antimicrobiana mais rápida (ou seja, menos de 30 segundos) em algumas espécies. Além disso, a exposição à Microcyn resulta em uma redução microbiana global maior em todas as espécies listadas na Tabela 9.

EXEMPLO 30

Esse exemplo demonstra a eficácia de uma solução aquosa com ORP contra *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina (ATCC 51.915).

Uma cultura de *Streptococcus pneumoniae* foi preparada

com o uso de uma cultura congelada para inocular múltiplas placas BAP, e incubação por 2-3 dias a 35-37°C com CO₂. Após a incubação, 3-7 ml de diluente/meio estéril foram transferidos para cada placa de ágar e raspados para
5 suspender o organismo. As suspensões de todas as placas foram coletadas e transferidas para um tubo estéril e comparadas com um Padrão de McFarland 4.0. A suspensão foi filtrada através de uma gaze estéril, e misturada por turbilhonamento antes do uso no procedimento de teste.

10 Um inóculo de 0,1 ml da suspensão do organismo foi adicionado a 49,9 ml da Microcyn ou da substância de controle. Em cada período de exposição, a mistura de teste foi misturada por agitação. A mistura de teste foi exposta por 15 segundos, 30 segundos, 60 segundos, 120 segundos, 5
15 minutos e 15 minutos a 25,0°C.

Uma amostra de 1,0 ml foi removida da mistura de teste e adicionada a 9,0 ml de neutralizante, representando uma diluição de 100 da mistura de teste inoculada neutralizada. Uma alíquota de 5 ml da mistura de teste inoculada
20 neutralizada 100 foi transferida para um aparelho de filtro de 0,45 microlitro pré-umedecido com 10 ml de tampão de Butterfield. O filtro foi enxaguado com aproximadamente 50 ml de tampão de Butterfield, removido assepticamente do aparelho, e transferido para uma placa BAP. Foram
25 preparadas diluições seriais adicionais 1:10, e alíquotas de um (1,0) ml das diluições 10⁻³- 10⁻⁴ da mistura de teste neutralizada inoculada foram plaqueadas em duplicata em BAP.

As placas de subcultura bacteriana foram incubadas por
30 48 ± 4 horas a 35-37°C em CO₂. As placas de subcultura

foram refrigeradas por dois a 2-8°C, antes de serem examinadas. Após incubação e estocagem, as placas de ágar foram observadas visualmente quanto à presença de crescimento. As unidades formadoras de colônia foram enumeradas, e o número de sobreviventes em cada tempo de exposição foi determinado. Sub-culturas representativas que demonstram crescimento foram examinadas adequadamente para confirmação dos organismos de teste.

A solução aquosa com ORP exemplar, Microcyn, demonstrou uma redução >99,93197279% de *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina (ATCC 51.915) após tempos de contato de 15 segundos, 30 segundos, 60 segundos, 120 segundos, 5 minutos e 15 minutos a 25,0°C.

EXEMPLO 31

O objetivo desse Exemplo é determinar a atividade microbiana de uma solução aquosa com ORP exemplar (Dermacyn) versus bacitracina com a utilização de um ensaio suspensão bacteriana.

Dermacyn é um produto pronto para uso e, portanto, a realização de diluições durante o teste não foi necessária. A bacitracina é uma solução re-hidratada concentrada que necessita de uma diluição até 33 Unidades/ml.

Uma suspensão de esporos de *B. atropheus* a $2,5 \times 10^7$ /ml adquirida foi usada para o teste. Além disso, suspensões frescas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* foram preparadas e medidas com o uso de um espectrofotômetro para assegurar que a titulação era aceitável.

Nove microlitros da substância de teste foram adicionados a 100 µl de suspensão de micróbios. A mistura

de teste foi mantida a 20°C pelos tempos de contato de 20 segundos, 5 minutos e 20 minutos. Um ml da mistura de teste (toda a mistura) foi adicionado a 9,0 ml de neutralizante por 20 minutos (esse é o tubo de neutralização original ou 5 ONT). Um ml da mistura de teste neutralizada foi plaqueado em ágar tríptico de soja em duplicata pelos tempos de contato de 5 minutos e 20 minutos. Foram usadas diluições e placas cobertas adicionais para o ponto de 20 segundos, para se obter placas contáveis.

10 Todas as placas foram incubadas a 30°C-35°C por um total de 3 dias e foram avaliadas após cada dia de incubação. Para determinar o número de micróbios expostos à Dermacyn e Bacitracina durante os testes, foram feitas quatro diluições de 10 vezes das suspensões, e 1,0 ml das 2 15 diluições finais foi plaqueado em duplicata, quando aplicável.

Dermacyn, quando atacada com os organismos de teste, mostrou erradicação total (redução > 4 log) das bactérias vegetativas em todos os pontos de tempo e, para esporos, 20 nos pontos de tempo de 5 e 20 minutos. Bacitracina só produziu uma redução de aproximadamente 1 log. Microcyn no ponto de tempo de 20 segundos mostrou alguma redução de esporos. Bacitracina não apresentou evidências de redução das populações bacterianas ou de esporos ao longo dos 25 períodos de tempo testados.

EXEMPLO 32

Esse exemplo demonstra a eficácia de duas soluções de água com ORP exemplares (M1 e M2) contra bactérias em biofilmes.

30 A cepa parente para todos os estudos é *P. aeruginosa*

PAO1. Todas as cepas planctônicas cresceram aerobicamente em meio mínimo (2,56 g de Na_2HPO_4 , 2,08 g de KH_2PO_4 , 1,0 g de NH_4Cl , 0,04 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,1 mg de $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,1 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 0,004 mg de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ por litro, pH 7,2) a 22°C em frascos em agitação a 220 rpm. Os biofilmes cresceram como descrito abaixo a 22°C em meio mínimo. Glutamato (130 mg/litro) foi usado como a única fonte de carbono.

Os biofilmes cresceram como descrito previamente (Sauer e cols., *J. Bacteriol.* 184: 1.140-1.154 (2002), que é aqui incorporado por referência). Resumidamente, as superfícies interiores de tubos de silicone de um sistema de reator com tubo de fluxo contínuo *once-through* foram usadas para o cultivo de biofilmes a 22°C. Os biofilmes foram coletados após 3 dias (estágio de maturação-I), 6 dias (estágio de maturação-2) e 9 dias (estágio de dispersão) de crescimento sob condições de fluxo. As células do biofilme foram coletadas da superfície interior pinçando-se o tubo ao longo de todo o seu comprimento, produzindo uma extrusão do material celular do lúmen. A pasta de células resultante foi coletada em gelo. Antes da amostragem, o volume líquido foi expurgado do tubo para evitar interferência de células planctônicas destacadas.

O tamanho da população de células planctônicas e do biofilme foi determinado pelo número de CFU com o uso de contagens de placa de diluição serial. Para isso, os biofilmes foram coletados da superfície interior após vários períodos de tempo de exposição até SOSs. As imagens dos biofilmes desenvolvidos em células de fluxo *once-through* foram visualizadas por luz transmitida com um

microscópio Olympus BX60 (Olympus, Melville, NY) e uma lente objetiva com ampliação de 100 A100PL. As imagens foram capturadas com o uso de uma câmera Magnafire resfriada carregada com três chips (Optronics Inc., Galena, CA) e uma exposição de 30 ms. Além disso, foi realizada microscopia a laser com varredura confocal com um microscópio invertido LSM 510 Meta (Zeiss, Heidelberg, Alemanha). As imagens foram obtidas com uma lente LD-Apochrome 40/0.6 e com o software LSM 510 Meta (Zeiss).

Foi observada uma redução de 2-log para os biofilmes tratados com M1 em 60 min de tratamento. O achado indica que, a cada 10,8 min (+/- 2,8 min), o tratamento com M1 resulta em uma redução de 50% da viabilidade do biofilme.

Tabela 10. Morte por M1.

Tempo (min)	Viabilidade (%)
0	100
10	50
20	25
34	12,5
47	6,25
54	3,125

No entanto, de forma geral, M2 foi um pouco mais eficaz na morte de biofilmes do que M1, pois os resultados indicaram que a cada 4,0 min (+/- 1,2 min) o tratamento com M2 resulta em uma redução de 50% na viabilidade do biofilme.

Tabela 11. Morte por M2.

Tempo (min)	Viabilidade (%)
0	100
2,5	50

7	25
12	12,5
15	6,25
20	3,125

Dessa forma, a água com ORP é eficaz contra bactérias em biofilmes.

Todas as referências aqui citadas, incluindo publicações, pedidos de patentes e patentes, são aqui
5 incorporadas por referência na mesma extensão como se cada referência fosse individual e especificamente indicada para ser incorporada por referência e fosse aqui apresentada em sua totalidade.

O uso dos termos "um", "uma", "a" e "o" e referentes
10 similares no contexto da descrição da invenção (especialmente no contexto das reivindicações a seguir) devem ser considerados como englobando tanto as formas no singular quanto no plural, a menos que aqui indicado de outra forma ou claramente contradito pelo contexto. Os
15 termos "que compreende", "que possui", "que inclui" e "que contém" devem ser considerados como termos em aberto (ou seja, significando "incluindo, sem limitação"), a menos que observado de forma diferente. A citação de intervalos de valores nessa especificação visa meramente servir como um
20 método abreviado de se referir individualmente a cada valor separado incluído no intervalo, a menos que aqui indicado de forma diferente, e cada valor separado é incorporado na especificação como se fosse individualmente aqui citado. Todos os métodos aqui descritos podem ser realizados em
25 qualquer ordem adequada, a menos que aqui indicado de forma diferente ou de algum outro modo claramente contradito pelo

contexto. O uso de qualquer um e de todos os exemplos, ou linguagem exemplar (por exemplo, "tais como") aqui fornecidos, visa simplesmente melhor ilustrar a invenção, e não impõe uma limitação ao escopo da invenção, a menos que 5 reivindicado de forma diferente. Nenhuma linguagem na especificação deve ser considerada como indicativa de qualquer elemento não reivindicado como essencial à prática da invenção.

São aqui descritas modalidades preferidas desta 10 invenção, incluindo o melhor modo conhecido pelos inventores para realizar a invenção. Variações dessas modalidades preferidas podem ser evidentes àqueles habilitados na técnica mediante a leitura da descrição precedente. Os inventores esperam que aqueles habilitados 15 na técnica empreguem essas variações da forma adequada, e os inventores desejam que a invenção seja praticada de uma forma diferente em relação àquela descrita especificamente nos exemplos. Conseqüentemente, esta invenção inclui todas as modificações e equivalentes da matéria em questão 20 citadas nas reivindicações em anexo, da forma permitida pela lei aplicável. Além disso, qualquer combinação dos elementos descritos acima em todas as variações possíveis deste é englobada pela invenção, a menos que aqui indicado de forma diferente ou de algum outro modo claramente 25 contradito pelo contexto.

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma solução aquosa com potencial de oxirredução, **caracterizado** pelo fato de que é para preparação de um medicamento para tratamento ou prevenção
5 de peritonite em um paciente, em que a solução compreende espécies de cloro livre em um nível de cerca de 10 ppm a cerca de 200 ppm, em que a solução é estável por pelo menos dois meses, em que a solução compreende água oxidada (*anode water*) e água reduzida (*cathode water*), e em que a solução
10 possui um pH de cerca de 6,4 a cerca de 7,8, em que a espécie de cloro livre é selecionada do grupo que consiste em ácido hipocloroso, íons hipoclorito, hipoclorito de sódio, íons cloreto, gás cloro dissolvido, e mistura destes.

15 2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que compreende contatar o tecido peritoneal no paciente com uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com potencial de oxirredução.

20 3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que compreende entregar uma quantidade terapêuticamente eficaz da solução aquosa com potencial de oxirredução ao espaço peritoneal do paciente.

25 4. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que a solução aquosa com potencial de oxirredução é entregue ao espaço peritoneal do paciente intraoperativamente, laparoscopicamente e transabdominalmente.

5. Uso, de acordo com a reivindicação 3, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

30 (a) ganhar acesso ao espaço peritoneal no paciente;

(b) entregar ao espaço peritoneal de cerca de 0,1 a cerca de 10L da solução aquosa com potencial de oxirredução;

(c) permitir que a solução aquosa com potencial de oxirredução permaneça no espaço peritoneal por um período de tempo suficiente para fornecer um efeito terapêutico;

(d) remover, opcionalmente, a solução aquosa com potencial de oxirredução; e

(e) repetir, opcionalmente, as etapas (b)-(d).

10 6. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a peritonite resulta de cirurgia, apendicite, colecistite aguda, úlcera péptica, diverticulite, obstrução intestinal, pancreatite, doença pélvica inflamatória, trombose mesentérica, tumor, trauma
15 penetrante, ou uma combinação destes.

7. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a peritonite é associada com uma infecção por um ou mais microrganismos selecionados do grupo que consiste em vírus, bactérias e fungos.

20 8. Uso, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato de que a infecção é por uma ou mais bactérias selecionadas do grupo que consiste em *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus hirae*, *Acinetobacter baumannii*, espécies de *Acinetobacter*,
25 *Bacteroides fragilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (VRE, MDR), *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*,
30 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA),

Staphylococcus epidermidis, *Staphylococcus haemolyticus*,
Staphylococcus hominis, *Staphylococcus saprophyticus*,
Streptococcus pneumoniae, *Streptococcus pyogenes*,
Salmonella choleraesuis, *Shigella dysenteriae*, *C.*
5 *perflingens*, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*,
Mycobacterium bovis, *Chlamydia trachomatis*, e combinações
destas.

9. Uso, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado**
pelo fato de que a infecção é por um ou mais fungos
10 selecionados do grupo que consiste em *Candida albicans*,
Candida parapsilosis, *Candida tropicalis*, *Trichophyton*
mentagrophytes e *Aspergillus fumigatus*.

10. Uso, de acordo com a reivindicação 1,
caracterizado pelo fato de que ainda compreende administrar
15 ao paciente uma quantidade terapêuticamente eficaz de um ou
mais agentes terapêuticos adicionais selecionados do grupo
que consiste em agentes anti-infecciosos e agentes anti-
inflamatórios.

11. Uso, de acordo com a reivindicação 1,
20 **caracterizado** pelo fato de que o pH da solução aquosa com
potencial de oxirredução é de cerca de 7,4 a cerca de 7,6.

12. Uso, de acordo com a reivindicação 1,
caracterizado pelo fato de que a solução aquosa com
potencial de oxirredução compreende água reduzida (*cathode*
25 *water*) em uma quantidade de cerca de 10% a cerca de 50% por
volume da solução, e água oxidada (*anode water*) em uma
quantidade de cerca de 50% a cerca de 90% por volume da
solução.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 1,
30 **caracterizado** pelo fato de que a solução compreende

espécies de cloro livre em um nível de cerca de 50 ppm a cerca de 80 ppm.

14. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a espécie de cloro livre oxirredução compreende de cerca de 15 ppm a cerca de 35 ppm de ácido hipocloroso.

15. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a espécie de cloro livre compreende de cerca de 25 ppm a cerca de 50 ppm de hipoclorito de sódio.

16. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a espécie de cloro livre compreende de cerca de 15 ppm a cerca de 35 ppm de ácido hipocloroso, e de cerca de 25 ppm a cerca de 50 ppm de hipoclorito de sódio.

17. Uso de uma solução aquosa com potencial de oxirredução, **caracterizado** pelo fato de que é para preparação de um medicamento para prevenir adesões peritoneais, em que a solução compreende espécies de cloro livre em um nível de cerca de 10 ppm a cerca de 200 ppm, em que a solução é estável por pelo menos dois meses, em que a solução compreende água oxidada (*anode water*) e água reduzida (*cathode water*), em que a solução possui um pH de cerca de 6,4 a cerca de 7,8, e em que a espécie de cloro livre é selecionada do grupo que consiste em ácido hipocloroso, íons hipoclorito, hipoclorito de sódio, íons clorito, íons cloreto, gás cloro dissolvido, e mistura destes.

18. Uso de uma solução aquosa com potencial de oxirredução, **caracterizado** pelo fato de que é para

preparação de um medicamento para prevenir abscessos peritoneais em um paciente, em que a solução compreende espécies de cloro livre em um nível de cerca de 10 ppm a cerca de 200 ppm, em que a solução é estável por pelo menos 5 dois meses, em que a solução compreende água oxidada (*anode water*) e água reduzida (*cathode water*), em que a solução possui um pH de cerca de 6,4 a cerca de 7,8, e em que a espécie de cloro livre é selecionada do grupo que consiste em ácido hipocloroso, íons hipoclorito, hipoclorito de 10 sódio, íons clorito, íons cloreto, gás cloro dissolvido, e mistura destes.

19. Uso de uma solução aquosa com potencial de oxirredução, caracterizado pelo fato de que é para preparação de um medicamento para prevenir complicações 15 sistêmicas em um paciente com peritonite, em que a solução compreende espécies de cloro livre em um nível de cerca de 10 ppm a cerca de 200 ppm, em que a solução é estável por pelo menos dois meses, em que a solução compreende água oxidada (*anode water*) e água reduzida (*cathode water*), em 20 que a solução possui um pH de cerca de 6,4 a cerca de 7,8, e em que a espécie de cloro livre é selecionada do grupo que consiste em ácido hipocloroso, íons hipoclorito, hipoclorito de sódio, íons clorito, íons cloreto, gás cloro dissolvido, e mistura destes.

25

FIG. 1

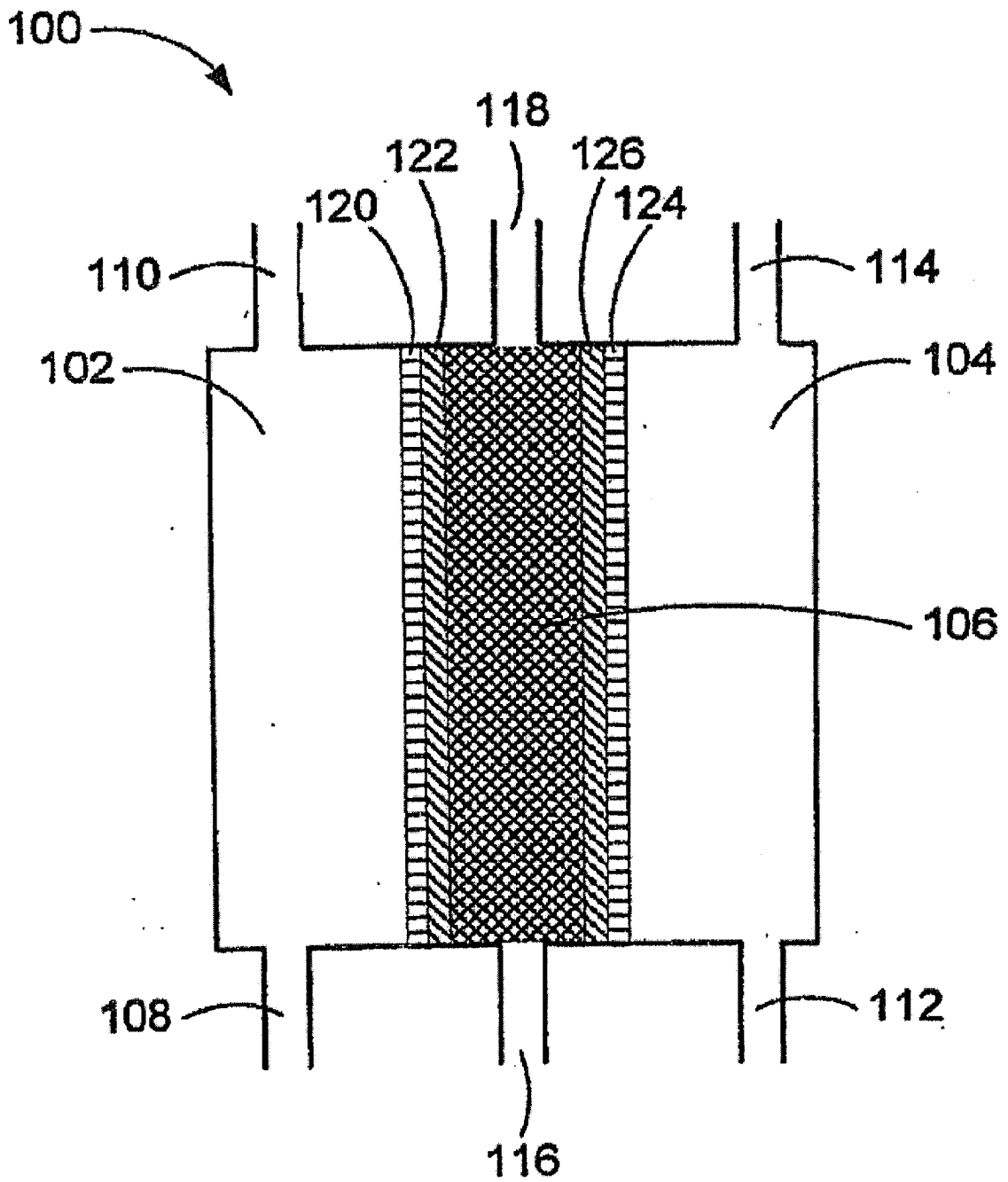


FIG. 2

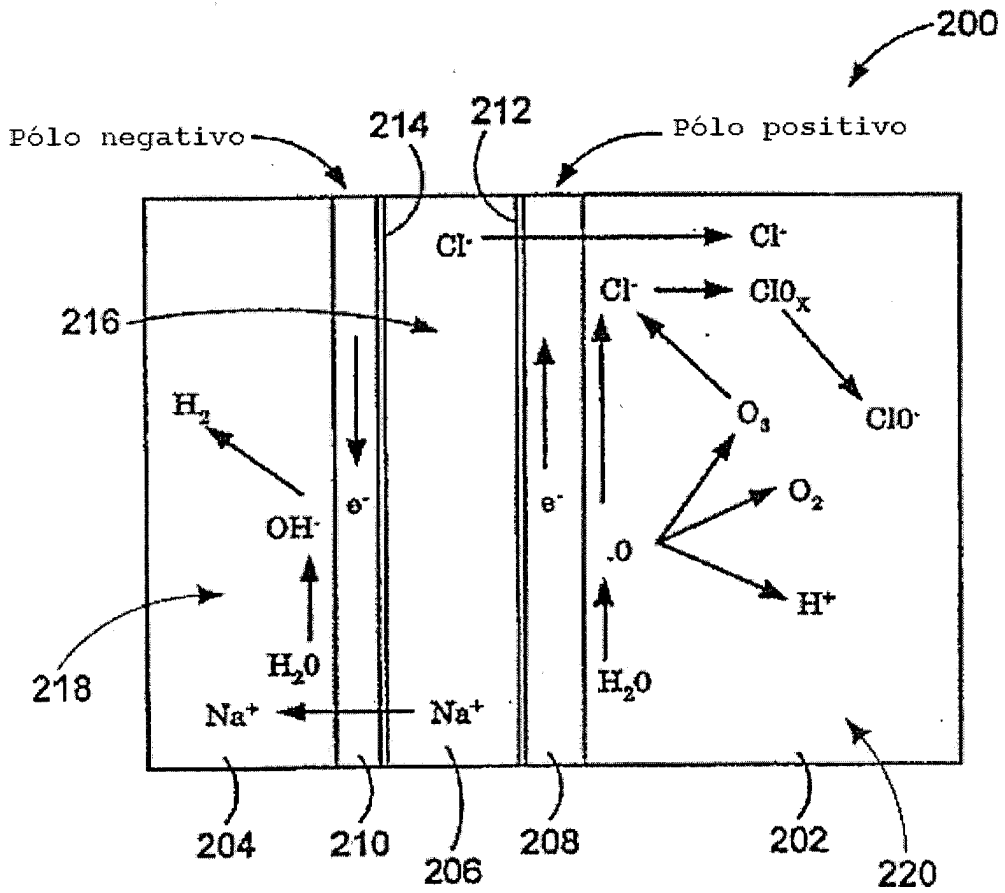


FIG. 3

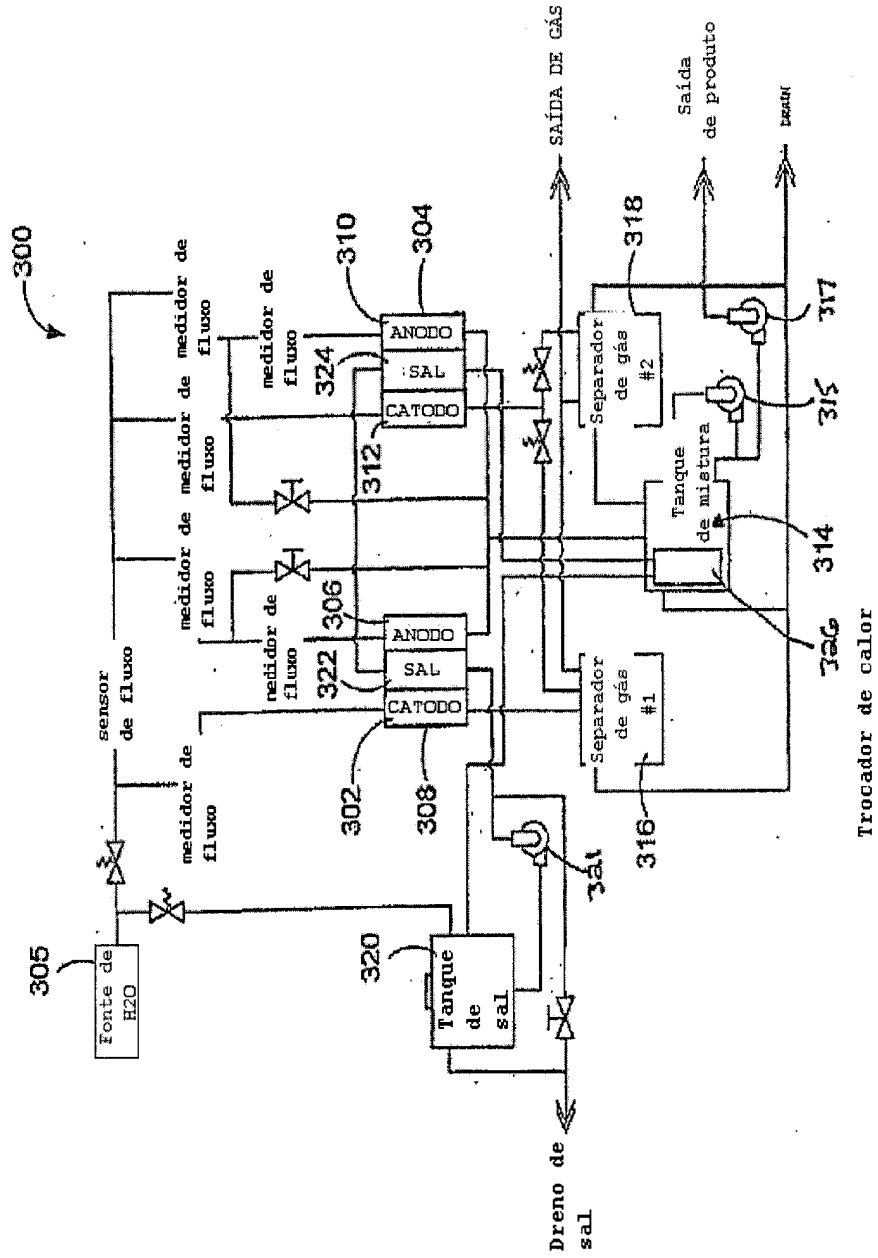


FIG. 4A

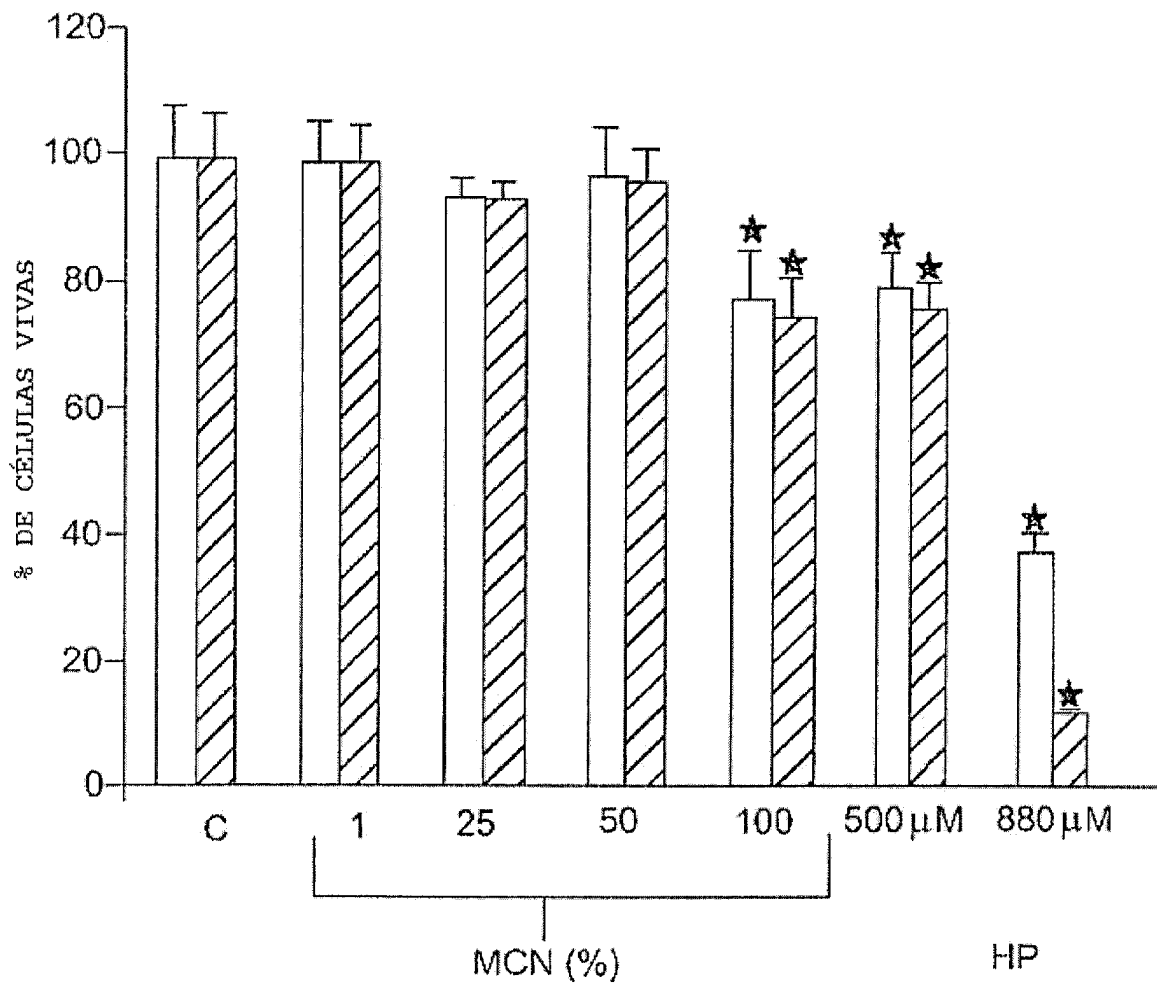


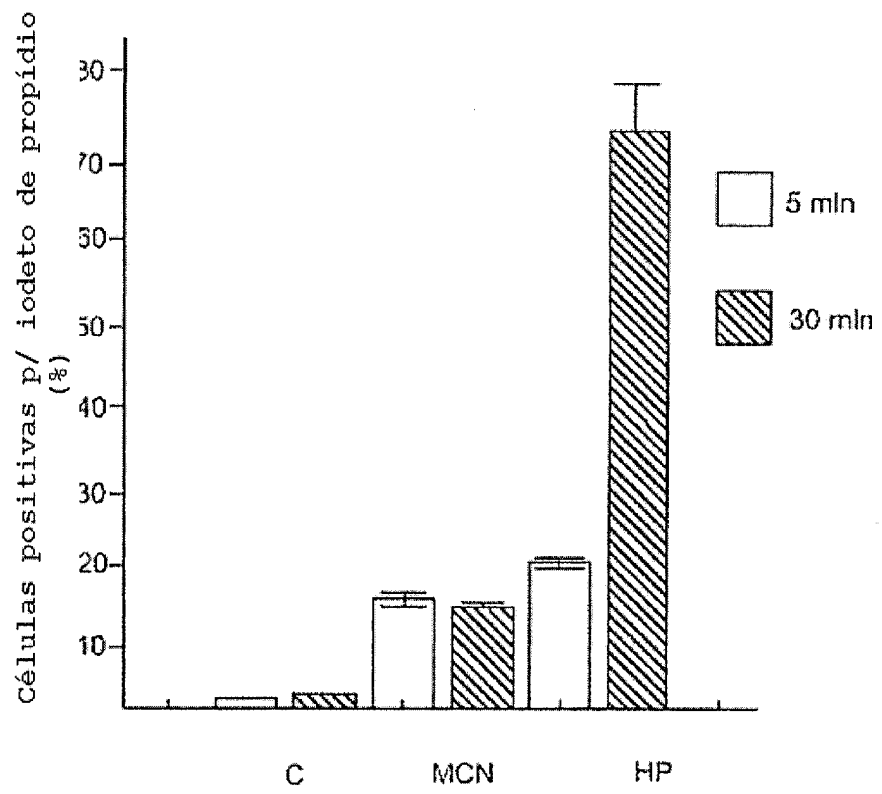
FIG. 4B

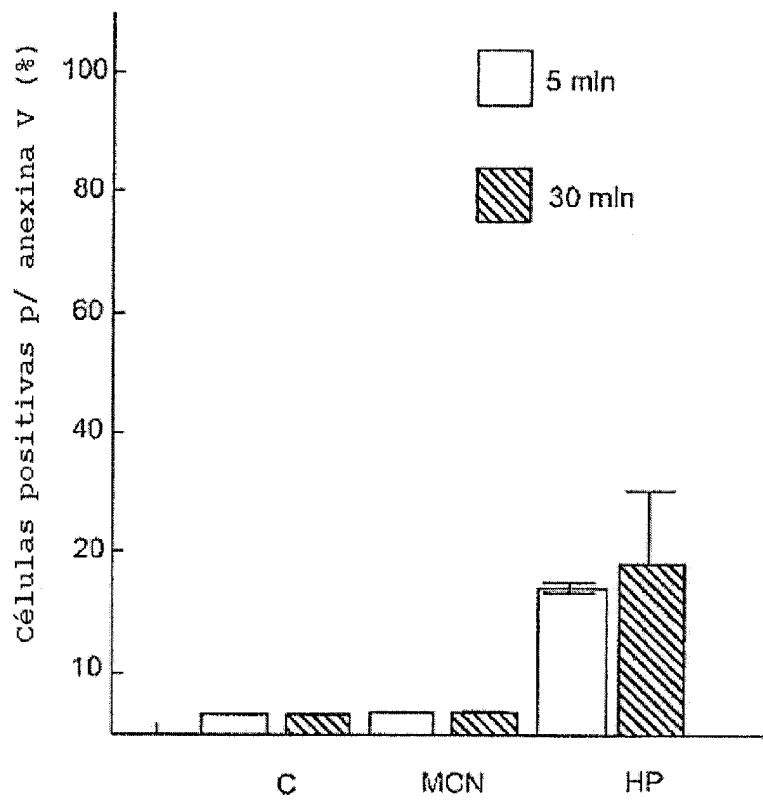
FIG. 4C

FIG. 5

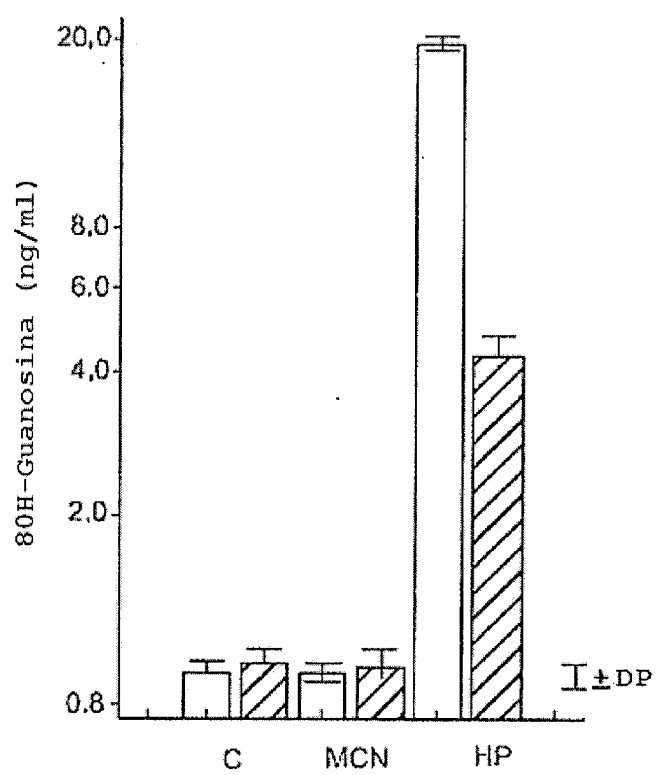


FIG. 6

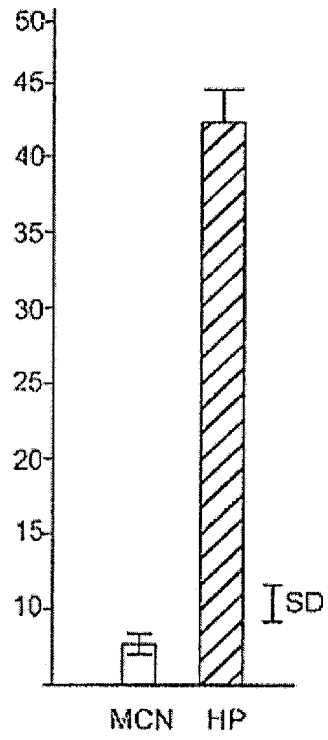


FIG. 7

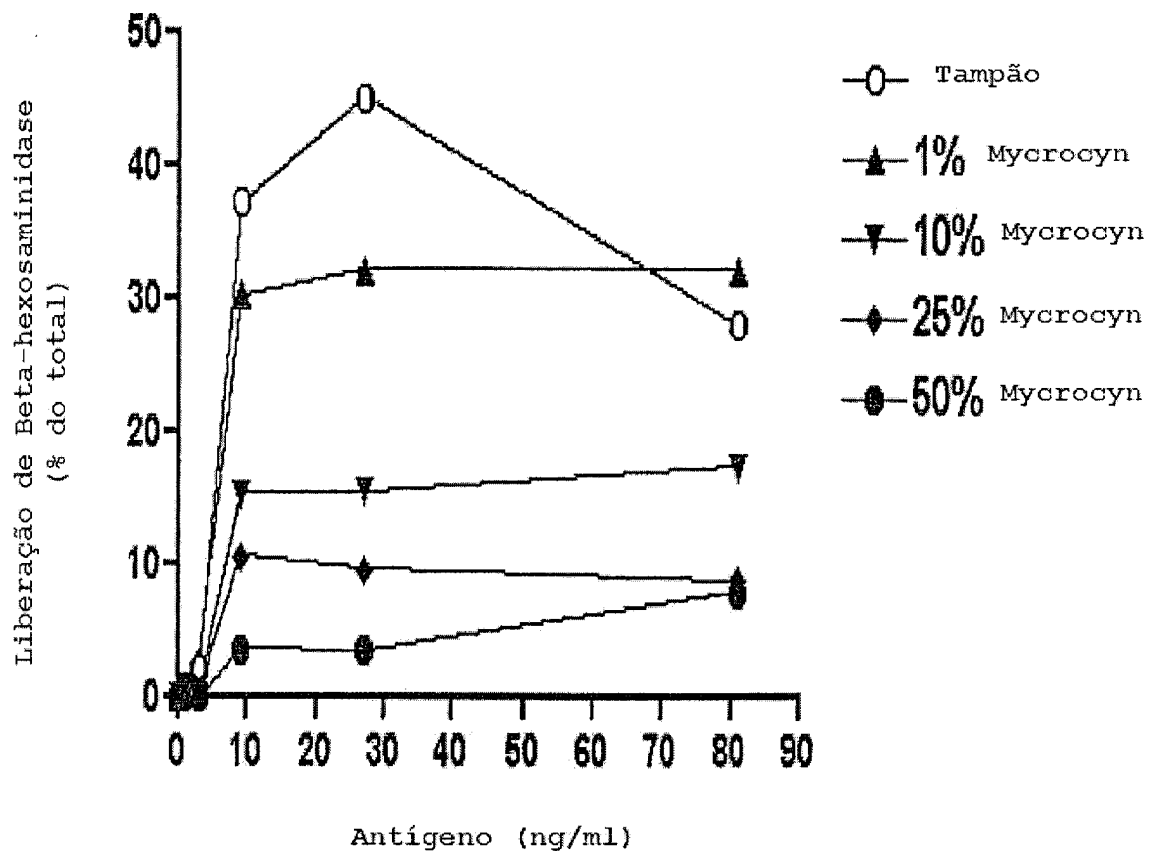


FIG. 8

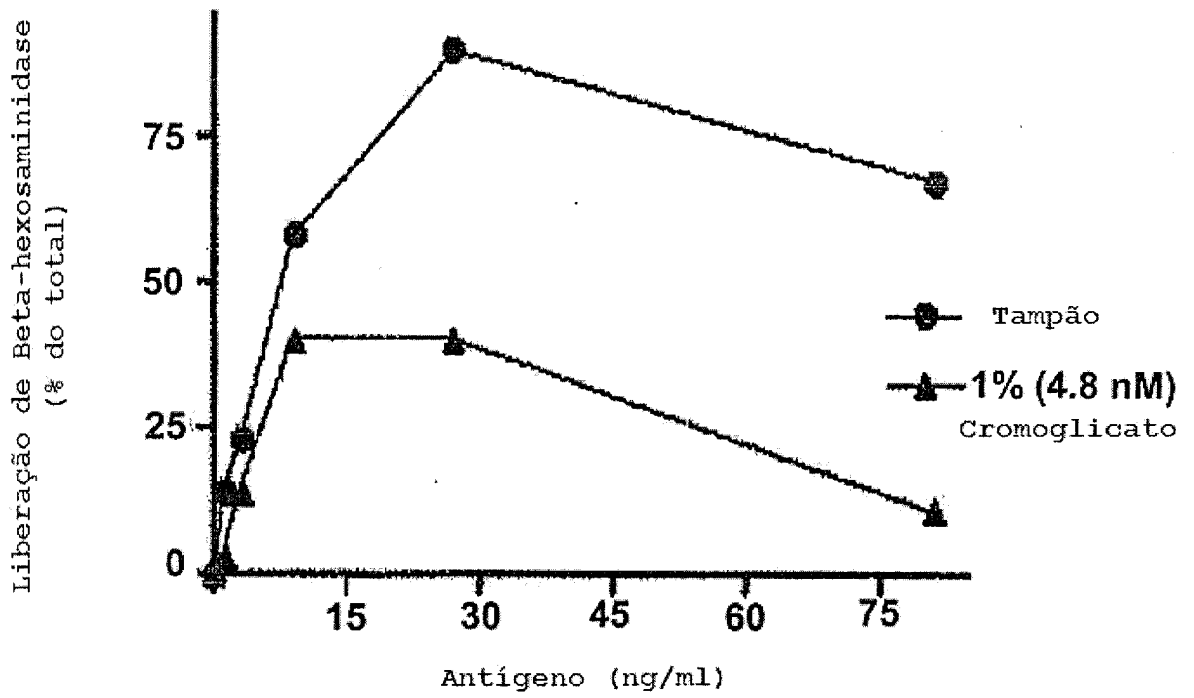


FIG. 9

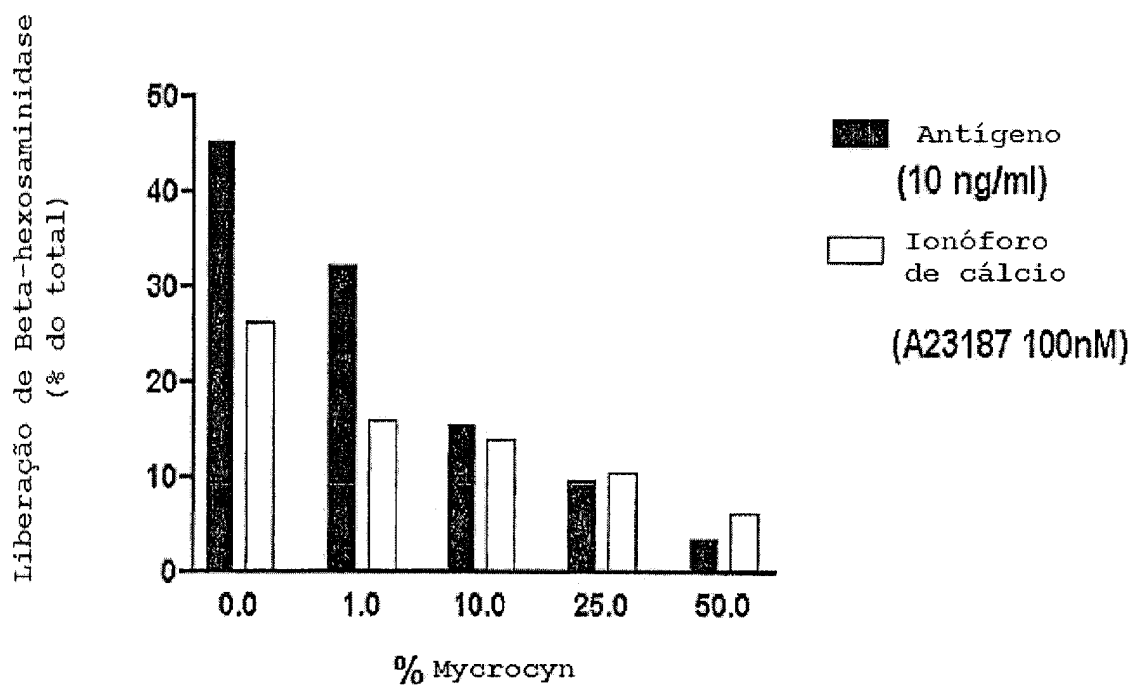


FIG. 10A

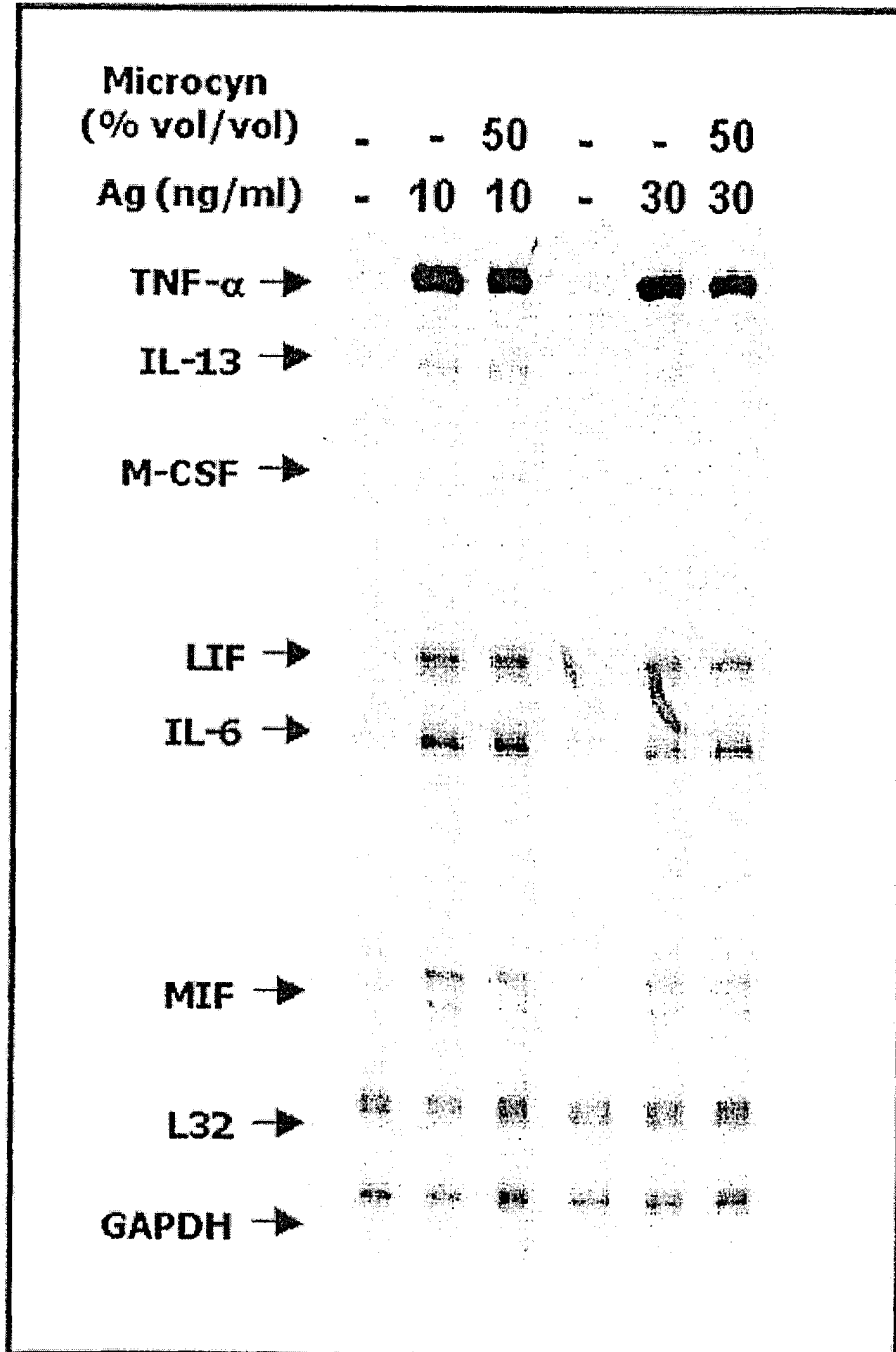


FIG. 10B

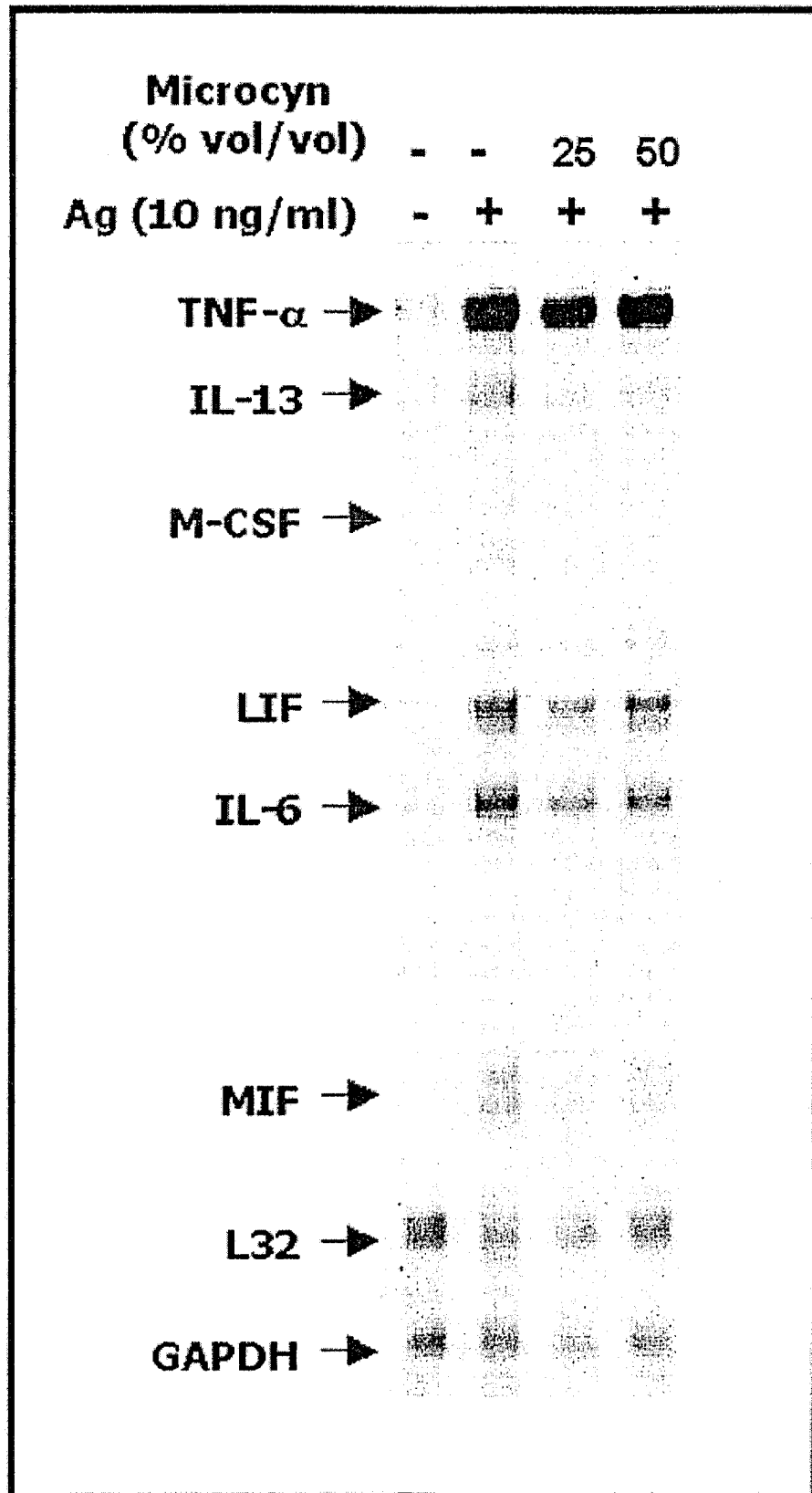


FIG. 11

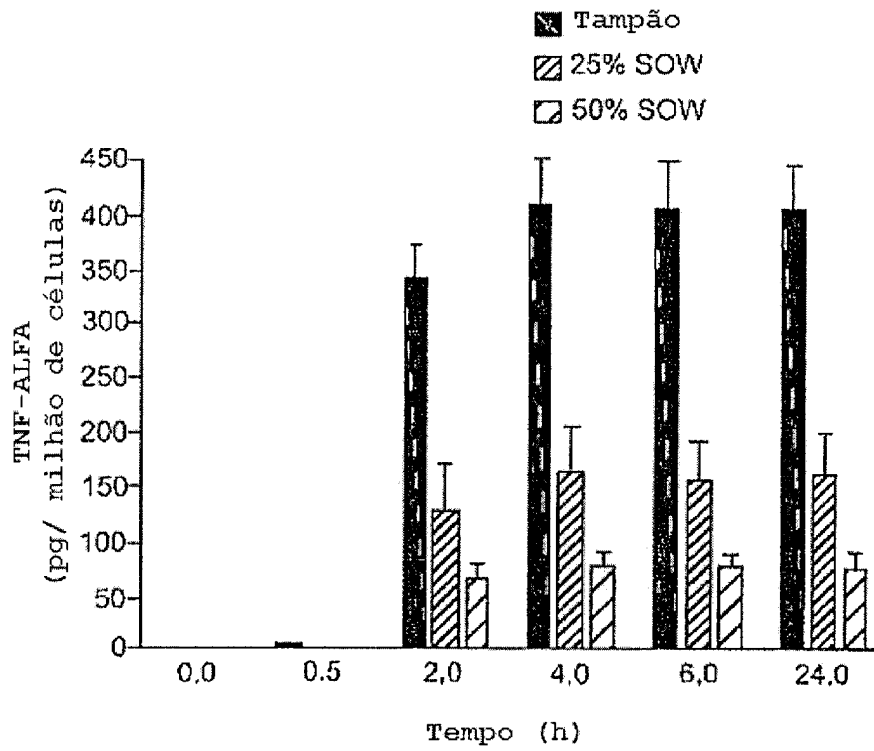


FIG. 12

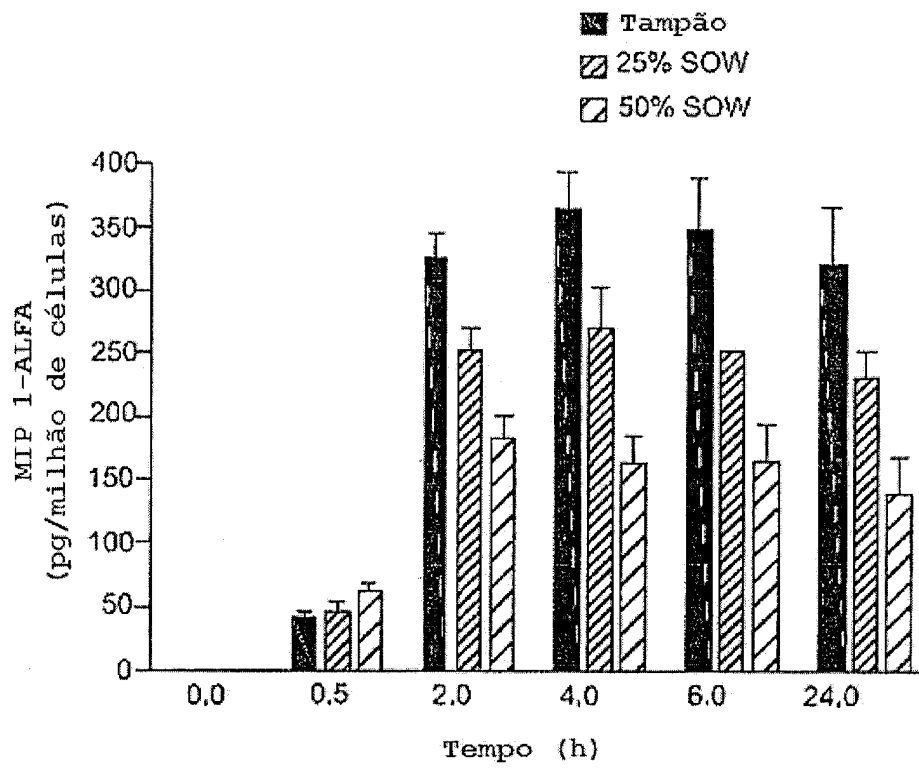


FIG. 13

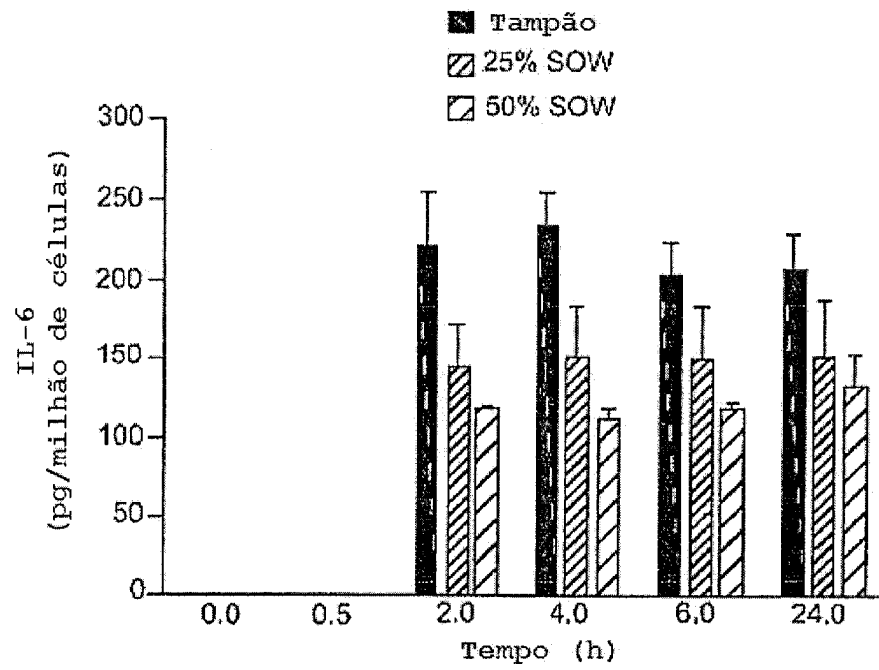


FIG. 14

