



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

(11) PI 1016082-5 B1



(22) Data do Depósito: 07/04/2010

(45) Data de Concessão: 22/12/2020

(54) Título: SELANTE INTRAMAMÁRIO DE MAMILOS

(51) Int.Cl.: A61K 33/24; A61K 47/06.

(30) Prioridade Unionista: 08/04/2009 US 61/207,879.

(73) Titular(es): WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION.

(72) Inventor(es): SCOTT. A. RANKIN.

(86) Pedido PCT: PCT US2010030252 de 07/04/2010

(87) Publicação PCT: WO 2010/118142 de 14/10/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 07/10/2011

(57) Resumo: FORMULAÇÃO DE SELANTE INTRAMAMÁRIO DE MAMILO E MÉTODO DE USAR O MESMO PARA REDUZIR OU ELIMINAR DEFEITOS VISUAIS EM QUEIJOS ENVELHECIDOS. A presente invenção refere-se a um selante intramamário de mamilo e um método correspondente de formar uma barreira física no canal do mamilo de um animal não humano para o tratamento profilático de doenças mamárias durante o período seco do animal. O método inclui a etapa de infusão de uma formulação de selante do mamilo, incluindo um sal de metal em uma base de gel glicerídeo contido no canal do mamilo do animal. O método também evita a formação do defeito de mancha preta em produtos lácteos, queijo cheddar em especial, feito a partir do leite de animais tratados.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"SELANTE INTRAMAMÁRIO DE MAMILOS"**.

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

[001] Prioridade é reivindicada ao pedido provisório N° de série 61/207,879, depositado em 8 de abril de 2009, cujo conteúdo é aqui incorporado por referência. Este pedido também está relacionado ao pedido copendente N° de série 11/869,966, depositado em 10 de outubro de 2007, que está incorporado neste documento por referência.

CAMPO DA INVENÇÃO

[002] A presente invenção refere-se a um selante intramamário de mamilo, contendo metal para prevenir a mastite em vacas secas. O selante intramamário de mamilo não causa defeitos visuais nos alimentos lácteos (especialmente queijo) feito de leite de animais tratados. A invenção é adicionalmente direcionada a um método para evitar o "defeito de mancha preta" (BSD) em queijo.

ANTECEDENTES

[003] Mastite em rebanhos leiteiros é uma das doenças mais dispendiosas e difíceis encontradas pelos produtores de leite. Terapias convencionais que visam à cura de mastite clínica incluem terapêutica antimicrobiana intramamárias. Apesar da disponibilidade comercial de muitos produtos antimicrobianos intramamários, as taxas de cura de mastite clínica permanecem perplexantemente baixas: 46% para *Streptococcus* spp, 21% para *Staphylococcus* spp, e apenas 9% para *Staphylococcus aureus* mastitis. Ver Wilson et al. (1996) National Mastitis Council Proceedings 164-165, e Crandall et al. (2005) NMC Annual Meeting Proceedings 215-216. Assim, os produtores de leite, muitas vezes simplesmente controlam a doença através do abate de animais propensos a mastite.

[004] Devido à dificuldade no tratamento da mastite, a prevenção de novas infecções intramamárias é um grande foco na indústria de

laticínios. A taxa de novas infecções é significativamente maior durante o período seco em comparação com as novas infecções durante o período de lactação. (Por exemplo, um estudo mostrou que 61% de todas as novas infecções gram-negativas intramamárias ocorreu durante o período seco. Ver Todhunter et al. (1995) J. Dairy Sci. 78:2366). O período de três semanas imediatamente seguintes a seca, e as duas semanas antes do parto, são períodos particularmente propensos a novas infecções. Assim, nos últimos anos os produtores de leite concentraram-se uma quantidade considerável de esforço em "manutenção preventiva" de vacas durante o seu período seco.

[005] Em abril de 2003, um selante de mamilo interno (ou "intramamário") (ITS) para uso em vacas secas foi introduzido no mercado dos EUA. Comercializado nos EUA sob a marca "ORBESEAL" (Registro de Marca norte-americano números 2772198 e 3120693), o produto foi desenvolvido na Nova Zelândia. O ITS da marca "ORBESEAL" introduzido no mercado dos EUA contém 65% p/p de subnitrato de bismuto disperso em uma pasta viscosa. O produto ITS não contém antibióticos, nem o produto contém agentes ativos antimicrobianos. O ITS é injetado na extremidade do mamilo usando uma seringa aplicadora tubular, da mesma forma como a aplicação de um antibiótico em vaca seca. O produto ITS enche as fissuras e dobras do canal do mamilo, criando uma barreira física a patógenos. Ver Patente norte americana nº 6254881, depositada em 03 de julho de 2001, aqui incorporada por referência.

[006] Os estudos iniciais do produto de marca "ORBESEAL" na Nova Zelândia concluiu que o produto funcionou bem como um amplo espectro, antibióticos intramamário de ação prolongada na prevenção de novas infecções intramamárias ao parto e na prevenção da aparência clínica da mastite durante os primeiros cinco (5) meses de lactação. Ver Woolford et al. (1998) New Zealand Veterinary Journal 46:1.

Um estudo mais recente nos EUA também concluiu que este produto ITS melhorou a saúde do mamilo das vacas já infundido com cloxacilina benzatina. Ver Godden et al. (2003) J. Dairy Sci.. 86:3899-3911. Assim, o ITS da marca "ORBESEAL" tem provado ser uma ferramenta eficaz na redução do número de novos casos de mastite em vacas leiteiras durante o período seco. Apesar da sua introdução relativamente recente no mercado dos EUA, o produto da marca "ORBESEAL" tem tido ampla aceitação no mercado e é usado extensivamente em rebanhos leiteiros dos EUA. Em suma, o produto da marca "ORBESEAL" é muito bom em sua finalidade de prevenir a mastite.

[007] Após a introdução do produto ITS da marca "ORBESEAL", nos EUA, um defeito visual em produtos lácteos envelhecidos, a maioria dos queijos cheddar nomeadamente envelhecidos, começaram a aparecer. O defeito visual toma a forma de pequenas manchas pretas (cerca de 0,5 a 5 mm de diâmetro) que aparecem em todo o queijo envelhecido. As manchas são um defeito visual puramente estético que reduz a qualidade graduada (e, portanto, o valor de mercado) do queijo afetado com o problema. As manchas não são acompanhadas por qualquer defeito organoléptico do queijo. Queijo afetado com manchas pretas é vendável, embora a um grau inferior ao dos queijos não afetados. O defeito foi denominado "defeito de mancha preta" (BSD).

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[008] A primeira versão da invenção se refere a um método de formar uma barreira física no canal do mamilo de um animal não humano para o tratamento profilático de doenças mamárias durante o período seco do animal e, simultaneamente, prevenir BSD em laticínios feitos a partir do leite do animal. O método compreende infusão de uma formulação de selante do mamilo no canal do mamilo do animal. A formulação de selante do mamilo pode conter bismuto ou pode ser livre de bismuto. A formulação é administrada em uma quantidade

suficiente para formar uma barreira física à entrada de micro-organismos no mamilo, mas não causa o defeito de mancha preta em laticínios feitos a partir do leite do animal. De preferência, o selante de mamilo é desprovido de agentes anti-infecciosos (ou seja, o selante de mamilo de preferência não contém antibióticos ou outros agentes anti-infecciosos ativos). De preferência o método compreende infusão de uma formulação de selante do mamilo compreendendo pelo menos cerca de 30% em peso de um sal de metal não tóxico, mais preferivelmente cerca de 50% a cerca de 75% em peso do sal de metal não tóxico, e ainda mais preferencialmente cerca de 65 % em peso do sal de metal não tóxico. O objetivo do sal é principalmente dar densidade suficiente para a composição para que o STI "se instale" no canal do mamilo.

[009] Em uma versão do método, o sal de metal não tóxico é selecionado do grupo que consiste em sais de bismuto, sais de titânio, sais de zinco, sais de bário, e combinações destes sais. Os sais mais preferidos são subnitrato de bismuto, dióxido de titânio, óxido de zinco, sulfato de bário, e combinações destes sais. Outros sais não tóxicos destes metais estão explicitamente no âmbito da invenção, como haleto, sulfatos, fosfatos, carbonatos, nitratos, sulfamatos, acetatos, citratos, lactatos, tartaratos, malonatos, oxalatos, salicilatos, propionatos, succinatos, fumaratos, maleatos, e assim por diante.

[0010] A base de gel pode ser qualquer formulação de gel apropriada, um hospedeiro dos que são conhecidos nas áreas farmacêuticas. A base de gel preferida compreende mono-, di-, e/ou triglicerídeos, que dão ampla capacidade de limpeza aperfeiçoada. Os glicerídeos podem conter cadeias laterais idênticas ou cadeias laterais diferentes, que podem ser derivadas de ácidos graxos saturados ou insaturados. Assim, a título de exemplo não limitante, mono-, di-, e/ou triglicerídeos podem incluir cadeias laterais derivadas do ácido decanoico, ácido láu-

rico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido pentadecanoico, ácido esteárico, ácido araquídico, ácido beénico, ácido lignocérico, ácido margárico, ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido oleico, ácido gadoleico, ácido erúcico, ácido ricinoleico, ácido linoleico, ácido linolênico, ácido licânico, ácido margaroleico, ácido araquidônico, ácido clupanadônico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, e assim por diante. Glicerídeos tendo mais ou menos cadeias laterais também podem ser usados. Os glicerídeos podem incluir, ou ser derivados de, um óleo animal ou vegetal ou gordura naturais, tais como (mas não limitadas a) as gorduras animais, óleo de canola, óleo de coco, óleo de milho, óleo de algodão, óleo de linhaça, óleo de palma, palmiste, óleo de canola, óleo de soja, óleo de girassol, óleo de peixe, óleo de algas, e assim por diante. Bases de gel particularmente preferidas são o óleo de canola, óleo de milho, e/ou óleo de algodão. Há uma série de fornecedores comerciais de glicerídeos, tais como ABITEC Corporation, Columbus, Ohio. O produto da ABITEC "CAPTEX 355", nº catálogo. 65381-09-1 e 73398-61-5, um triglicerídeo de ácido caprílico, funciona muito bem na presente invenção.

[0011] Assim, na sua forma mais preferida, o selante intramamário de mamilo compreende, em combinação, uma base de gel que compreende um glicerídeo e um sal de metal não tóxico disperso na base de gel. O método preferido correspondente, assim compreende infundir uma quantidade de uma formulação de selante do mamilo no canal do mamilo do animal. A formulação de selante do mamilo compreende um sal de metal não tóxico disperso em uma fase de gel compreendendo um glicerídeo, em que a quantidade de formulação de selante do mamilo infundido é suficiente para formar uma barreira física à entrada de micro-organismos no canal do mamilo. A formulação de selante do mamilo também não causa o defeito de mancha preta em laticínios feitos a partir do leite do animal.

[0012] Outra versão da invenção se refere a um selante de mamilo intra-mamário consistindo essencialmente em uma base de gel, incluindo mono-, di-, e/ou triglicerídeos, em combinação com um sal de metal não tóxico disperso na base de gel, em que o sal de metal é subnitrato de bismuto. Como observado anteriormente, o selante de mamilo de preferência compreende pelo menos cerca de 30% em peso, mais preferivelmente cerca de 50% a cerca de 75% em peso, e ainda mais preferencialmente cerca de 65% em peso do sal de metal.

[0013] Ainda uma outra versão da invenção é uma melhoria para selantes intramamários de mamilo. Especificamente, em um método de formar uma barreira física no canal do mamilo de um animal não humano para o tratamento profilático de doenças mamárias durante o período seco do animal, em que o método compreende a etapa de infusão de uma formulação de selante no canal do mamilo do animal sem um agente anti-infeccioso, a melhoria da presente invenção compreende infundir uma formulação de selante do mamilo compreendendo um sal (s) de metal não tóxico em uma base de gel contendo glicérideo. A melhoria impede a formação do defeito de mancha preta em produtos lácteos feitos a partir de leite de animais tratados.

[0014] Faixas numéricas, como aqui utilizadas aqui pretendem incluir todos os números e subconjunto de números contidos dentro dessa faixa, se especificamente divulgadas ou não. Além disso, estas faixas numéricas devem ser interpretadas como apoio a uma reivindicação direcionada a qualquer número ou um subconjunto de números nessa faixa. Por exemplo, uma divulgação de 1 a 10 deve ser interpretada como apoiando uma faixa de 2 a 8, de 3 a 7, 5, 6, de 1 a 9, de 3,6 a 4,6, de 3,5 a 9,9, e assim por diante.

[0015] Todas as referências a características singulares ou limitações da presente invenção incluem a característica plural correspondente ou limitação, e vice-versa, salvo indicação em contrário ou cla-

ramente implícito em sentido contrário pelo contexto em que a referência é feita.

[0016] Todas as combinações de método ou etapas de processo como aqui utilizadas podem ser realizadas em qualquer ordem, salvo indicação em contrário ou claramente implícita em sentido contrário pelo contexto em que a combinação é feita referência.

[0017] Os métodos da presente invenção podem compreender, consistir, ou consistir essencialmente nos elementos essenciais e as limitações dos métodos e produtos aqui descritos, bem como de quaisquer ingredientes adicionais ou opcionais, componentes ou limitações aqui descritos ou de outra forma úteis em química orgânica sintética.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0018] Figuras 1A e 1B são fotografias de um defeito de mancha preta típico em um bloco de 18 kg de queijo cheddar branco envelhecido. Figura 1A mostra a superfície do bloco, com um defeito de mancha preta visível. Figura 1B é uma vista ampliada (com uma régua sobreposta), mostrando as dimensões do defeito. Tais manchas são igualmente distribuídas por todo o queijo.

[0019] Figura 2 é uma fotomicrografia eletrônica de um defeito de mancha preta exibindo estruturas tipo cabelo ou haste de nanobastões de bismuto (III) de sulfeto. Tais estruturas não apareceram em nenhum queijo não BSD ou regiões testadas de queijo não BSD. As hastes mostradas na figura 2 têm diâmetros que variam de 37,09 nm a 129,33 nm.

[0020] A figura 3 é uma fotomicrografia eletrônica de uma estrutura tipo haste única de uma região de defeito de mancha preta. A haste mostrada em 130,88 nm de diâmetro e apresenta uma linha que atravessa o comprimento da haste.

[0021] As figuras 4A e 4B são imagens de defeitos de mancha pre-

ta induzidas em laboratório. Na figura 4A, os vários componentes do selante intramamário de mamilo (ITS) de marca "ORBESEAL" foram misturadas com queijo e cada mancha foi fotografada imediatamente. Figura 4B mostra as mesmas manchas fotografadas após a exposição tanto para compostos voláteis do queijo cheddar envelhecido ou gás sulfídrico. Os locais 4 e 5 contêm subnitrato de bismuto e formulação ITS da marca "ORBESEAL", respectivamente.

[0022] Figura 5 é um histograma mostrando a facilidade de limpeza de vários tipos de ITS.

[0023] Figura 6 é um gráfico que descreve a viscosidade das formulações ITS em diferentes temperaturas. Eixo X representa a temperatura em °C, eixo Y representa a viscosidade.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[0024] Começando no final de 2003, uma série de perguntas têm sido feitas por fabricantes de queijo para a Universidade de Wisconsin-Madison, Departamento de Ciência do Alimento e Centro para Pesquisa Diária (CDR), buscando informações sobre a aparência de um novo "defeito de mancha preta" em queijos envelhecidos, nomeadamente queijo cheddar envelhecido. Historicamente, descolorações cinza para preta no queijo têm sido o resultado de várias causas diferentes e distintos, incluindo o crescimento de micro-organismos específicos (por exemplo, certos propionibactéria ou moldes ambientais) ou a contaminação de queijo com detritos lubrificantes de grau alimentício. O BSD em particular observado pelos fabricantes de queijo, no entanto, não se encaixava no perfil de um contaminante bacteriano ou outro organismo de deterioração, nem parece ser os detritos de lubrificante foram encontrados em percurso no fluxo de leite ou outros detritos introduzidos durante o processo de fabricação do queijo.

[0025] Assim, o primeiro passo foi determinar a estrutura química do defeito mancha preta. Um grande esforço foi feito inicialmente para

extrair as regiões afetadas do queijo BSD. Esforços de extração utilizando um amplo espectro de solventes orgânicos de diferentes hidrofobicidade, polaridade, etc., foram infrutíferos como um meio de isolar qualquer tipo de massa de pigmentos orgânicos a partir da matriz de queijo. Apesar de a extração do BSD com solventes orgânicos não ter sido bem sucedida, os esforços de extração deram dados úteis. Nomeadamente, porque o pigmento não se dissolve ou se difunde em tais solventes, pode-se concluir (com um alto grau de probabilidade) que o pigmento mancha preta também não iria se dissolver ou difundir dentro da matriz de queijo em si.

[0026] Exame visual de um número crescente de amostras de queijo exibindo o defeito (amostras acumuladas de fabricantes de queijo comercial) confirmou esta conclusão o pigmento mancha preta é bem contido e não parece se difundir na matriz do queijo. Ver figuras 1A e 1B, que são fotografias de um bloco de 18 kg típico de queijo cheddar branco envelhecido, afetado com o BSD. Figura 1A é uma fotografia da superfície externa do bloco de queijo. Figura 1B é uma vista ampliada de uma única mancha preta, com uma régua sobreposta à imagem para mostrar as dimensões do local. Manchas, como a mostrada nas figuras 1A e 1B normalmente são igualmente distribuídas por todo o bloco de queijo, variando em tamanho de <1 mm a cerca de 5 mm de diâmetro. A frequência das manchas dentro de qualquer dado bloco de queijo de 18 kg varia muito, de <10 por bloco a mais de 100.

[0027] Houve alguns relatos recebidos de fabricantes de queijo que o envelhecimento e estratégias específicas de armazenamento podem ajudar na dissolução ou difusão das manchas até o ponto que elas não são mais visualmente perceptíveis. (Porque o defeito não é acompanhado por qualquer deficiência organoléptica, "desbotamento" das manchas iria melhorar a condição). Tal efeito, no entanto, é alta-

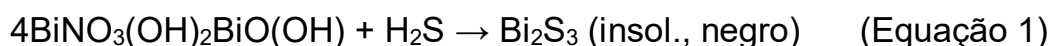
mente improvável, dada a estabilidade do pigmento para os solventes orgânicos empregados nos esforços de extração. Em resumo, os experimentos de extração realizados pelo inventor utilizaram solventes tendo hidrofobicidade semelhante à gordura do leite. Se a mancha preta do pigmento dissolvido ou difuso na matriz do queijo em si (através de um envelhecimento ou protocolo de armazenamento), o pigmento deve também prontamente se dissolver ou difundir em um solvente orgânico com características físicas semelhantes as do leite de gordura. Esse resultado não ocorreu no laboratório. Além disso, dado o pH típico / ambiente ácido no queijo, e os períodos de envelhecimento típico / vida útil associados com a maioria dos queijos tipo cheddar envelhecidos (0,5 a 2 anos), as evidências empíricas de que o defeito pode ser amenizado através de envelhecimento ou protocolos de armazenamento é sem mérito.

[0028] Um experimento, no entanto, se mostrou mais esclarecedor: o pigmento mancha preta é facilmente dissolvido em ácido nítrico. Isto fortemente sugeriu que o pigmento fosse um sal inorgânico. Juntamente com o momento da primeira aparição do defeito, uma hipótese de trabalho foi formulada, ou seja, que o ITS ou fosse um agente causador da (ou pelo menos correlacionado com) o BSD. A descoberta de que o pigmento mancha preta se dissolve facilmente em ácido apoiou uma hipótese adicional de que o pigmento pode ser composto de sulfeto de bismuto III. Assim, concluiu-se que o produto de marca "ORBESEAL", que nos EUA contém 65% em peso de um sal contendo bismuto, era provável ser inadvertidamente introduzido no fluxo de leite. Como observado acima, o produto de marca "ORBESEAL" foi bem sucedido comercialmente, pois forma uma barreira forte fisicamente para a entrada de patógenos no canal do mamilo. No entanto, remover o produto de um animal tratado exige cortar o mamilo do animal. Constatou-se que alguns dos ITS permaneceram nos mamilos após a re-

moção e foram encontrados desta forma no leite, queijo.

[0029] A próxima fase da pesquisa operada em conformidade com a hipótese de que o sulfeto de bismuto III foi de fato o agente causador de BSD. Subnitrato de bismuto em si é branco e relativa e quimicamente inerte. Assim, sua presença de traço em leite fluido, queijo mussarela, e iogurte não é facilmente perceptível visualmente. No entanto, em queijos maturados, com sabor de alta intensidade, o defeito de mancha preta aparece com destaque. Assim, a hipótese de que o sulfeto de bismuto III (um sal preto relativamente insolúvel) foi o produto de uma reação entre subnitrato de bismuto (a partir do ITS) e sulfeto de hidrogênio produzido dentro do queijo envelhecido pela ação da microflora de maturação, enzimas, e certos cofatores atuando sobre os componentes de proteína / aminoácido do queijo.

[0030] Em suma, a hipótese foi que subnitrato de bismuto feito desta forma no fluxo de leite devido à remoção incompleta do ITS anterior para a ordenha. O subnitrato de bismuto, em seguida, reagiu com sulfeto de hidrogênio para produzir sulfeto de bismuto III de acordo com a Equação 1



[0031] O produto, sulfeto de bismuto III (ou simplesmente sulfeto de bismuto) é um sal relativamente insolúvel, negro.

[0032] Além de ter um alvo elemental específico, bismuto, foi hipotetizado que, nas condições ou ambiente de químicos presentes na matriz do queijo, o moléculas de Bi_2S_3 formariam uma estrutura cristalina referida na literatura como nanobastões ou nanowhiskers. Ver Zhang et al. (2001) *Sol. State Comm.* 119:143-146 and B. Zhang et al. (2006) *J. Phys. Chem.* 110:8978-8985. Estes nanobastões contendo bismuto constituiriam assim partículas de difração de luz capazes de transmitir o tom de cinza para preto visto no defeito de mancha preta.

[0033] Esforços foram focados em confirmar: 1) a presença de

bismuto elementar nos defeitos de mancha preta e 2) confirmar a presença física das estruturas de nanobastão de sulfeto de bismuto III dentro dos defeitos de mancha preta.

[0034] Confirmar a presença de bismuto nas manchas pretas foi investigado usando espectroscopia de massa de plasma indutivamente acoplado (ICPMS). Método AOAC International (Association of Analytical Communities) 993.14 foi utilizado. Os primeiros esforços selecionaram várias manchas pretas para a presença de vários elementos que podem estar contribuindo para BSD. Os experimentos iniciais se concentraram em sais de metal / óxido típicos daqueles encontrados em equipamentos de transporte / manipulação de leite e queijo, e outros derivados de metal residual presentes em processamento de grau de alimentício. Como medida de controle, análises de composição de queijo foram realizadas. Especificamente, as proteínas, cinzas e umidade foram medidas utilizando métodos 2.001,14, 935,42 e 926,08, dos Métodos Oficiais de Análises, Edição AOAC 17ª Edição, respectivamente (copyright 2000, ISBN: 0935584-67-6). Gordura foi medida de acordo com o método descrito nos Métodos Oficiais de Análises AOAC, 17ª Edição.

[0035] Estudos de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foram realizados da seguinte forma: cerca de 100 mL de água bidestilada foi adicionado às amostras e a mistura foi pulverizada em uma suspensão com um bastão de vidro. Aproximadamente 5 mL de alíquotas de amostra suspensa foram depositados sobre 300 poços de grades TEM de cobre revestidos com álcool polivinílico -formaldeído acetal (Ted Pella, Inc., Redding, CA). O excesso de amostra foi retirado com pequenas seções de papel de filtro e a amostra restante foi seca à superfície da grade à temperatura ambiente. Em alguns casos, cepas negativas TEM da marca NANO-W (Nanoprobe, Incorporated, Yaphank, NY) foram aplicadas sobre a amostra seca para melhorar o

contraste e visibilidade. Espécimes foram observados com um microscópio eletrônico Philips CM 120 e imagens foram coletadas com uma câmera Digital MegaView 3 (do SIS, Ringoes, NJ). Medições foram tomadas com o software de análise da marca SIS (Ringoes, NJ) calibrado com amostras de referência de comprimentos conhecidos.

[0036] Resultados da ICPMS demonstraram a presença dos elementos cromo, cobre, ferro, níquel e bismuto na região BSD. Apesar dos aumentos incrementais nos elementos cromo, cobre, ferro e níquel terem sido encontrados, as concentrações de bismuto na região BSD foram rotineiramente três ordens de magnitude maiores do que o mesmo queijo testado em áreas sem BSD. Estes resultados mostram que o bismuto é o único elemento presente em quantidades suficientes para participar de uma reação de geração de pigmento.

[0037] Várias centenas de imagens TEM de regiões BSD de amostras de queijo foram capturadas com uma conclusão única e consistente. Nanobastões típicos daqueles relatados na literatura citada acima foram singularmente presentes na região do queijo BSD. Um exemplo de tal imagem é apresentado na figura 2. As estruturas de nanobastão mostradas na figura. 2 são pequenas demais para ser facilmente detectadas com um microscópio de luz. O nanobastões mostrados na figura 2 variam em diâmetro de cerca de 69 nm a cerca de 130 nm. Os nanobastões são muito estáveis às condições potencialmente abusivas de TEM. Os bastões parecem ter um pouco de superfície manchada e eles apresentam uma linha característica percorrendo todo o comprimento do nanobastão. Ver Figura 3, que é uma vista de ampliação aumentada de um único nanobastão. A presença de tais estruturas é consistente com a presença de nanobastões de sulfeto de bismuto formados nas condições presentes na matriz do queijo.

[0038] Para confirmar a reatividade de subnitrito de bismuto como reagente na formação de nanobastões de sulfeto de bismuto III, ensai-

os adicionais foram realizados para ver se BSD poderia ser propositalmente recriado em laboratório. Em suma, os queijos foram fabricados com quantidades conhecidas de seus componentes e submetidos a qualquer dos gases voláteis autênticos produzidos por queijos maduros ou expostos diretamente ao coreagente hipotético de subnitrato de bismuto, gás sulfídrico. Em ambas as situações, as respostas eram invariavelmente as mesmas: Quando amostras de queijo contendo subnitrato de bismuto ou a formulação ITS completa foram expostas a voláteis de queijo autênticos ou a gás H_2S de grau químico padrão, cada um formou pigmentação preta idêntica com a presença concomitante de estruturas denanobastões, confirmando que subnitrato de bismuto é o culpado em BSD. Os resultados são mostrados na Figura 4. Nenhum outro componente ITS formou manchas pretas quando assim expostos. Além disso, os locais suscetíveis formados de pigmentação preta de forma idêntica quando expostos a qualquer voláteis de queijo autênticos ou a gás sulfídrico, confirmando assim que o gás sulfeto de hidrogênio foi a suspeita de coreagente.

[0039] A partir de um ponto de vista de fabricação de queijo e envelhecimento ou amadurecimento, não é razoável considerar como alvo a eliminação de produção de gás de sulfeto de hidrogênio como um meio de controlar BSD. Sulfeto de hidrogênio é um composto aromático altamente ativo, o produto de origem microbiana, enzimático e atividades de cofator contra aminoácidos contendo enxofre tal como a cisteína. Ver Arfi et al. (2002) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58:503-510. Há uma pesquisa ampla para apoiar a reivindicação de que o gás sulfeto de hidrogênio é um componente necessário e/ou valorizado de sabor de queijo cheddar envelhecido típico. Ver Burbank & Qian (2005) *J. Chrom.* 1066:149-157. Mesmo que um esquema fosse criado para eliminar a produção de sulfeto de hidrogênio (interrompendo dezenas de complexas vias metabólicas) o produto final resultante corre

o risco de um caráter de sabor inaceitável para avaliadores e consumidores de queijo.

EXEMPLOS

[0040] Os exemplos a seguir são apenas para fornecer uma descrição mais completa da invenção divulgada e reivindicada aqui. Os exemplos não se limitam à invenção de qualquer maneira.

Exemplo 1:

[0041] Um ITS de teste utilizando uma combinação de óxido de zinco e óxido de titânio como os sais de metal foi formulado. O ITS de teste era idêntico à formulação da marca "ORBESEAL", com a ressalva de que não continha qualquer bismuto ou sais contendo bismuto. O ITS de teste era composto de óxido de zinco, dióxido de titânio, óleo mineral (30-40%) e estearato de alumínio.

[0042] Para preparar uma batelada de ITS, parafina líquida (por exemplo, óleo mineral) é entregue em um recipiente adequado equipado com um misturador. Estearato de alumínio é adicionado e a mistura é agitada e aquecida a aproximadamente 160 °C até que homogeneidade (cerca de duas horas). O sal não contendo bismuto não tóxico, é então adicionado em porções à mistura, com agitação, até a quantidade desejada de sal de metal foi adicionado. A mistura é então agitada até que se tornou homogênea. O produto é então transferido para tubos injetores convencionais para administração intramamilo.

Exemplo 2:

[0043] O objeto deste exemplo foi comparar retenção dentro dos mamilos de vacas não lactantes de um ITS que não inclui subnitrato de bismuto em comparação com o produto da marca "ORBESEAL".

[0044] O estudo foi realizado no Dairy Blaine da Universidade de Wisconsin-Madison (UW), em Arlington, Wisconsin. Dezesseis (16) vacas (n = 64 mamilos) foram inscritas no dia da secagem. Todas as vacas inscritas foram obrigadas a ter quatro quartos funcionais e ne-

nhum sinal visível de mastite. Todas as vacas foram secas e receberam a terapia de vaca seca com antibióticos intramamário (DCT) segundo protocolos de rebanho leiteiro UW. Paridade e produção de leite (em seco) foram registradas para cada vaca. Após a matrícula inicial, mamilos foram marcados em forma, comprimento, diâmetro e grau de hiperqueratose de extremidade de mamilo. Dentro de cada vaca, dois mamilos foram designados para receber o ITS da marca "ORBESEAL" e dois mamilos foram designados para receber o ITS de teste. O protocolo de administração foi concebido para garantir que cada produto fosse administrado de maneira uniforme entre os locais de mamilo, oito mamilos cada um por produto administrados em cada local (direita-atrás, direita-frente, esquerda-atrás, esquerda-frente). Tubos de selante foram pesados antes e depois da administração para determinar o volume líquido administrado. Antes de receber DCT e o selante interno do mamilo, nas extremidades do mamilo foram limpas com um álcool isopropanol 70% único e técnica de inserção parcial foi utilizada para reduzir a probabilidade de introdução de patógenos da pele do mamilo. Após a administração do selante interno, mamilos foram mergulhados com um desinfetante de mamilo externo.

[0045] Mamilos foram examinados nos dias 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 28, 42 e no parto para detectar vermelhidão, inchaço e/ou vazamento de selante. Nos dias 14, 28, 42 e no parto, o selante foi retirado de um mamilo (oito mamilos para cada selante por dia de remoção) de cada vaca cortando com a mão. O selante removido foi coletado com o primeiro leite em frascos de plástico graduados de 50 ml. Os frascos foram centrifugados (3.000 minutos rpm x 5-7), o sobrenadante lavado, e o selante recuperado foi pesado. A quantidade de selante recuperado foi comparada a cada período entre os mamilos tratados com ITS e os mamilos tratados com ITS da marca "ORBESEAL". As amostras foram coletadas no dia 1 pós-parto utilizando o mesmo procedimento. Em

todos os períodos de amostragem, após a remoção do selante, mamilos foram mergulhados com um desinfetante de mamilo externo. Após o parto, um quarto das amostras de leite coletadas assepticamente foram todas cultivadas para identificar infecções intramamárias.

Características de Grupo – Comprimento e Volume de Mamilos:

[0046] Um total de 16 vacas foram incluídas no estudo para um número total de 64 mamilos, 32 mamilos receberam o ITS de teste e 32 mamilos receberam o ITS da marca "ORBESEAL". O comprimento e volume do mamilo para a população de teste é mostrado na Tabela 1:

Tabela 1. Média, desvio padrão e erros padrão para Comprimento de Volume de Mamilos por Composto

	Group A ("ORBESEAL"-ITS)				Group B (Test ITS)				
	N	Média	S.D.	S.E.	N	Média	S.D.	S.E.	p
Comprimento	32	5,12	0,88	0,16	32	5,11	0,86	0,15	0,95
Volume	32	23,60	8,61	1,52	32	25,72	9,73	1,73	0,36

[0047] Não houve diferença significativa no comprimento do mamilo ou no volume dos mamilos no Grupo A ou Grupo B ($p > 0,36$). Comprimento do mamilo geral foi de 5,11 centímetros, variando de 3,3 cm a 7,3 cm. O comprimento médio do mamilo foi de 5,12 centímetros para o Grupo A e 5,11 centímetros para o Grupo B, e variou de 3,3 cm a 7,3 centímetros para o Grupo A e de 3,5 cm a 7,10 centímetros para o Grupo B. As duas amostras de teste t pareado foram realizadas para testar a hipótese nula de que o comprimento do mamilo médio nos dois grupos de tratamento não diferiu. Não houve diferença significativa no comprimento do mamilo entre os mamilos randomizados para receber o produto ($p = 0,95$).

[0048] O volume do mamilo total foi de 24.66 cm³, variando de 12.47cm³ a 54.34 cm³ (desvio padrão de 9.17 cm³). O volume de ma-

milo médio foi de 23.6 cm³, variando de 12.54 cm³ a 54.34 cm³ (.desvio padrão de 8.60 cm³) no grupo A. No grupo B, volume de mamilo médio foi de 25.71 cm³, variando de 12.47 cm³ a 48.25 cm³ (.desvio padrão de 9.73 cm³). Um teste pareado de duas amostras foi usado para testar a hipótese nula que o volume do mamilo nos dois grupos não diferem. Não existe nenhuma diferença significativa no volume do mamilo entre mamilos aleatorizados para receber o produto ($p = 0.95$ e $p = 0.35$; análise transformada log).

[0049] Hiperceratose: Saúde da extremidade do mamilo foi pontuada por hiperceratose usando a seguinte escala: Sem anel (N), Anel suave (S), áspero (R), muito áspero (VR). A distribuição das pontuações do mamilo foi: N ($n = 21$; 32.8%), S ($n = 31$; 48.4%), R ($n = 11$; 17.2%) e VR ($n = 1$; 2%). Um teste X² confirmou a distribuição da pontuação de hiperceratose não foi associada com o grupo de tratamento ($p = 0.13$).

Tabela 2. Estatística Descritiva para Hiperceratose

	Grupo A ("OR-BE SEAL" ITS)		Grupo B (Test ITS)		Geral	
Pontuação	Frequência	Porcento	Frequência	Porcento	Frequência	Porcento
N	13	40,63	8	25,00	21	32,81
S	11	34,38	20	62,50	31	48,88
R	7	12,88	4	12,50	11	17,19
VR	1	3,23	n/a	n/a	1	1,56

[0050] Quantidade de Selante Administrado, Recuperado e perdido: Análise estatística usando um teste t pareado foi realizada para determinar se a quantidade de selante administrado, recuperado e perdido, ou perdido (não recuperado) não diferiu com base no grupo de tratamento.

Tabela 3. Teste t pareado de duas amostras para a Média de Selante Administrado, recuperado e perdido por produto

Grupo A (ITS "ORBESEAL")			Grupo B (ITS de Teste)			Geral			
N	Média	S.D.	N	Média	S.D.	N	Média	S.D.	P
Administrado									
32	3,46	0,85	32	3,77	0,96	64	3,62	0,91	0,12
Recuperado									
32	0,85	1,42	32	0,79	1,57	64	0,82	1,49	0,89
Perdido									
32	2,71	1,37	32	3,04	1,55	64	2,88	1,46	0,40

[0051] Dos quatro (4) gramas em cada tubo, a quantidade global de selante administrada foi de 3,62 gramas. Não houve diferença significativa na quantidade de ITS da marca "ORBESEAL" (3,46 gramas) ou ITS de teste (3,62) administrado ($P = 0,12$).

[0052] No geral, a quantidade de selante recuperado foi de 0,82 grama e não houve diferenças significativas com base no tratamento ($P = 0,89$). A quantidade global de selante perdida foi de 2,88 gramas e não diferiu por grupo de tratamento ($P = 0,40$). A quantidade de selante recuperado tendia a ser associada com a data de recuperação ($P = 0,08$) com mais selante recuperado no dia 14, em comparação com outros períodos de recuperação (dia 14, recuperação = 1,6 gramas; dia 28, recuperação = 0,68 grama; dia 42, recuperação = 0,65 grama, parto, recuperação = 0,33 grama).

[0053] Regressão linear simples foi usada para determinar que não houve relação significativa entre a quantidade de selante e volume do mamilo administrado ($p = 0,59$, $p = 0,53$).

[0054] Para o selante recuperado um teste de regressão linear simples foi realizado para testar a hipótese nula de que não houve relação linear significativa entre a quantidade de selante recuperado e o volume do mamilo. Apenas 6% do selante recuperado foi explicado por volume de mamilo ($P = 0,05$).

[0055] A proporção de selante administrada não foi significativamente associada com o volume do mamilo, enquanto o selante recuperado foi correlacionado significativamente com o volume do mamilo, mas apenas para uma pequena proporção (6%).

[0056] A ANOVA one-way foi usada para determinar as relações univariadas entre a quantidade de selante administrado e recuperado e a posição do mamilo, o produto, a vaca.

Tabela 4. Tabela de Associação Univariada de Volume Administrado e Recuperado (valores P)

	Administrado	Recuperado
	(p)	(p)
Volume do mamilo	0,53	0,13
Posição do mamilo	0,56	0,52
Produto	0,19	0,88
Dia	-	0,07
Vaca	0,05	0,17

Exemplo 3:

[0057] O objeto deste exemplo foi o desenvolvimento de um ITS, com propriedades de capacidade de limpeza melhorada. Neste exemplo, um ITS semelhante ao descrito no exemplo 1 foi feito, mas o gel de óleo mineral foi substituído por uma fase móvel baseada em triglicerídeos. Estes selantes, que são preferidos, provaram ter boas propriedades de barreira, bem como propriedades de limpeza melhoradas usando protocolos de limpeza de mamilo convencionais (em comparação com selantes a base de óleo mineral). Produtores de leite descobriram que é extremamente difícil de remover resíduos de formulações ITS baseadas em óleo mineral convencionais, das superfícies de contato com o leite usando procedimentos padrão de limpeza no local (CIP). Portanto, um ITS que tem boas propriedades de barreira e que também é fácil de limpar as superfícies que entram em contato que o leite é muito desejável no mercado.

[0058] Devido a vários fatores, muitos produtores de leite não adequadamente removem ITS do mamilo antes da ordenha. É pouco provável que este resultado possa ser eliminado através de esforços de treinamento e educação. Além disso, muitos produtores de leite que não rotineiramente alcançam a temperatura recomendada e exigências de concentração de composto de limpeza durante a limpeza, agravando assim o acúmulo de resíduos de suas formulações convencionais em equipamentos de ordenha. Práticas de limpeza de produtores de leite não são susceptíveis de alteração por meio de esforços de educação. No entanto, uma abordagem viável para a melhoria da capacidade de limpeza de ITS residual reside em alterar a química do produto ITS em si.

[0059] O componente de sal do ITS, quer se trate de subnitrato de bismuto, óxido de zinco ou algum outro sal, não é influenciado ou solubilizado a qualquer grande grau de limpeza utilizando protocolos padrão. Os sais em si são partículas dispersas. Os sais não são solúveis em qualquer fase de gel contínua (convencionalmente óleo mineral), nem na fase de limpeza aquosa. Mais ainda, o componente de óleo mineral (uma mistura viscosa de alcanos) de um produto ITS é essencialmente não reativo a produtos químicos de limpeza padrão (por exemplo, limpador alcalino clorado). O óleo mineral é também suficientemente não polar para resistir à solubilização por solução de limpeza aquosa. Em suma, uma vez que um ITS compreendendo uma fase de gel de óleo mineral é depositado sobre uma superfície de contato do leite, é extremamente difícil de remover o ITS utilizando protocolos padrão de limpeza.

[0060] O papel que o óleo mineral desempenha na formulação de um ITS é como um dispersante de fase inerte contínua. O presente inventor descobriu que esse papel também pode ser desempenhado por materiais como um óleo de mono-, di-, e/ou triglicerídeos. O bene-

fício da substituição de óleo mineral por, por exemplo, um material de triglicerídeos, é que, diferentemente do óleo mineral, triglicerídeos é reativo para o agente mais comum de limpeza de equipamentos de leite, limpadores alcalinos (ou seja, hidróxido de sódio). Ácidos graxos esterificados como glicerídeos são quimicamente convertidos a um pH elevado com hidróxido de sódio em seus sais de sódio correspondentes, por exemplo, estearato de sódio, e são facilmente removidos das superfícies e dispersos na fase aquosa da solução de limpeza. Óleos de triglicerídeos, tais como milho, algodão ou óleo de canola estão prontamente disponíveis, são estáveis ao calor (para fins de esterilização), e podem ser alterados para ter estabilidade e propriedades diferentes de derretimento.

[0061] ITS baseado em glicerídeo se compara muito favoravelmente com ITS a base de óleo mineral em termos de propriedades de barreira. O ITS baseado em triglicerídeo também apresenta pelo menos uma melhoria de 10 vezes na capacidade de limpeza em comparação a ITS a base de óleo mineral. Devido à facilidade de limpeza melhorada, um ITS baseado em triglicerídeo pode utilizar um sal contendo bismuto, como subnitrito de bismuto como o componente de sal.

[0062] Para ITS de teste é feito de uma base de gel de glicerídeo, um pequeno circuito de limpeza no local (CIP) foi construído. O circuito CIP compreende um tanque de 11 galões, linhas flexíveis sanitárias, uma bomba centrífuga, uma válvula de estrangulamento, e um medidor de fluxo digital. Para superfícies de teste, 2" x 2" cupons de 316 de aço inoxidável e plástico foram utilizados. Os cupons limpos foram pesados. Amostras de peso conhecido de ITS foram então aplicadas na superfície de cada cupom e cupons pesados novamente. Os cupons foram então lavados no circuito CIP. Cada cupom foi inserido na extremidade de uma das linhas flexíveis do circuito CIP e mantido no lu-

gar com uma braçadeira. A bomba foi então ligada e a vazão modulada com a válvula de estrangulamento para atingir a vazão desejada alvo como exibido no medidor de fluxo digital. Um termopar digital foi usado para monitorar a temperatura. Com o cupom e tratamento ITS no local, o sistema foi preenchido com água quente a 130 °F, a bomba ligada e ajustada para o fluxo. 28,35g (1 oz) de limpador alcalino clorado por galão de água no circuito CIP foi adicionada e o sistema foi autorizado a funcionar por 10 minutos. O cupom foi removido, seco e pesado para determinar a quantidade da sua retirada.

[0063] Os resultados demonstram que não há diferenças exclusivas na capacidade de limpeza entre o ITS da marca "ORBESEAL" e o ITS à base de zinco descrito no Exemplo 1, os quais usam o óleo mineral como a fase de gel. Ver Tabela 5, mostrada na figura. 5, n = 3. Tabela 5 exhibe a remoção em por cento em peso de tratamentos ITS de aço inoxidável e cupons de plástico. Chave: ss = superfície de aço inoxidável; pl = superfície de plástico; orb = ITS da marca "ORBESEAL"; zmo = zinco + óleo mineral; zcot = zinco + óleo de algodão; zcan = zinco + óleo de canola.

[0064] Em contraste, formulações ITS feitas com um triglicerídeo como a fase de gel, em vez de óleo mineral, resultou em um aumento dramático (por exemplo, 10 vezes) do grau em que o solo residual é removido. Ver Figura 5. Sem ser limitado a um mecanismo específico, acredita-se que a facilidade de limpeza melhorada é resultado da reatividade química aumentada de triglicerídeos, em comparação com o óleo mineral não reativo. Em suma, a ligação éster do material de triglicerídeos é prontamente hidrolisada por parte do agente de limpeza básico (NaOH). Como tal, o solo é disperso na fase aquosa como um sal de sódio dos ácidos graxos correspondentes.

Exemplo 4 - Reatividade de Produto Laticínio:

[0065] Amostras de leite fluído (2% homogeneizado, vitamina D)

foram inoculadas com 0,05% em peso de cada tratamento ITS e armazenadas a 45 °F por duas semanas. Posteriormente, as amostras foram visualmente avaliadas para sinais de deterioração utilizando métodos sensoriais por um quadro de especialistas (n = 4). Havia quatro tratamentos ITS avaliados, incluindo ITS da marca "ORBESEAL", Zn / óleo mineral, Zn / óleo de canola, e uma amostra de controle. Os palestrantes foram convidados a usar uma diferença de avaliação de controle. Em suma, os palestrantes foram convidados a avaliar a amostra de controle, então a taxa de amostras tratadas em sabor com o leite de controle como uma referência. Resultados foram os seguintes:

[0066] Não havia quaisquer sinais visuais de desestabilização de proteínas. Cada uma das amostras de leite tratado apareceu indistinguível do controle. Avaliações de sabor obtiveram resultados semelhantes em que nenhum defeito de sabor significativo ou atributo surgiu em função da presença ou tipo de seu tratamento.

[0067] Análise de queijo ainda está em andamento. Amostras de queijo muçarela e cheddar recém preparadas foram fabricadas e as superfícies foram tratadas com ITS, embaladas a vácuo, e estão atualmente em um programa de envelhecimento. Até o momento, quaisquer sinais deletérios ou defeitos de aparência estão presentes.

Exemplo 5 - Fermentação de iogurte e Avaliação Sensorial:

[0068] Três diferentes fermentações de iogurte foram conduzidas para investigar um possível efeito da presença do selante ZnO ou ITS da marca "ORBESEAL" sobre as características sensoriais finais deste produto fermentado. Em experimentos anteriores, foi determinado que a presença de tais materiais não alterou a queda do pH do produto de forma perceptível. Assim, o seguinte experimento foi realizado: 50 mL de leite pasteurizado foram colocados em três frascos esterilizados de 100 mL e inoculados com 0,5 mL de uma suspensão contendo Lacto-

Bacillus delbruekii spp. *bulgaricus* (em caldo Elliker, previamente incubado por 24 horas a 37 °C). 50 mg de ITS da marca "ORBESEAL" foi adicionado em um dos frascos e 50mg do selante ZnO em outros (65% em óleo mineral pesado), o terceiro frasco foi usado como tratamento de controle. Os frascos foram incubados durante a noite a 37 °C e avaliados quanto a diferenças no pH final, bem como perfis de sabor e aroma.

[0069] Resultados: O pH final dos três produtos fermentados foi muito semelhante, e variou entre 4,45 e 4,5. Nenhuma diferença nos perfis de sabor e aroma foi detectada entre os três tratamentos quando da degustação dos produtos finais.

Exemplo 6 - Densidade de formulações ITS:

[0070] As densidades de 7 diferentes formulações ITS com base em zinco foram determinadas e comparadas com ITS da marca "ORBESEAL". Alíquotas (400 mL) de cada uma das preparações de selante foram pesadas com uma balança analítica. A tabela 6 resume os resultados obtidos para cada amostra. As entradas de tabela correspondem à média de pelo menos 10 medições com os desvios padrão correspondentes. Em geral, a densidade das suspensões aumentou ao se utilizar maior quantidade de ZnO. O critério de desempenho foi uma série de 5 a 10% da densidade do ITS da marca "ORBESEAL" original. Esta é uma faixa de cerca de 1,817 a cerca de 2,009 g / mL ao nível de 5% e cerca de 1,722 a cerca de 2,104 g / mL ao nível de 10%. Todas as amostras testadas estavam dentro destes parâmetros, com exceção do tratamento com Óleo de Canola e 60% de ZnO ao nível de 5%.

Tabela 6. Densidades de Diferentes Formulações ITS.

Produto	Densidade (g/mL)
Orbeseal	1,913 ± 0,018
65% de ZnO (Óleo Mineral Pesado).	1,907 ± 0,023

Produto	Densidade (g/mL)
65% de ZnO (Óleo Mineral Leve).	1,902 ± 0,011
70% de ZnO (Óleo Mineral Leve).	1,915 ± 0,007
65% de ZnO (Óleo de Canol).	1,990 ± 0,010
63% de ZnO (Óleo de Canol).	1,870 ± 0,029
60% de ZnO (Óleo de Canol).	1,732 ± 0,036
65% de ZnO (Óleo de Semente de Algodão).	1,937 ± 0,010

Exemplo 7 - Viscosidades de formulações ITS:

[0071] As viscosidades do ITS recém-preparado compreendendo óxido de zinco, estearato de alumínio, e óleo de canola foram determinadas, em diversas temperaturas, usando um viscosímetro Brookfield modelo DV Digital-I Prime (Brookfield, Middleboro, MA), equipado com um eixo S06 a 2,0 rpm. O efeito da temperatura sobre a viscosidade destas novas formulações ITS pode ser observado na Figura 6. Dados a temperaturas mais baixas (-15°C) estão em andamento.

REIVINDICAÇÕES

1. Selante intramamário de mamilos, caracterizado pelo fato de que compreende,:

a) uma base de gel farmacêuticamente aceitável que compreende um glicerídeo; e

b) um sal de metal não tóxico disperso na base de gel farmacêuticamente aceitável.

2. Selante de mamilo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a base de gel farmacêuticamente aceitável compreende um triglicerídeo.

3. Selante de mamilo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que a base de gel farmacêuticamente aceitável compreende um óleo selecionado a partir do grupo que consiste em gorduras animais, óleo de canola, óleo de coco, óleo de milho, óleo de algodão, óleo de linhaça, óleo de palma, óleo de palmiste, óleo de colza, soja, óleo de girassol, óleo de peixe e óleo de algas.

4. Selante de mamilo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o selante de mamilo é desprovido de agentes anti-infecciosos e/ou bismuto.

5. Selante de mamilo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que compreende não menos que 30% em peso do sal de metal não tóxico, preferencialmente, compreende 50% a 75% em peso do sal de metal não tóxico, e mais preferencialmente, compreende 65% em peso do sal de metal não tóxico.

6. Selante de mamilo, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o sal de metal não tóxico é selecionado a partir do grupo que consiste em sais de titânio, sais de zinco e sais de bário.

7. Selante de mamilo, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o sal de metal não tóxico é selecionado a partir do grupo que consiste em dióxido de titânio, óxido de zinco e sulfato de bário.

8. Selante de mamilo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que está arranjada para formar uma barreira física no canal do mamilo de um animal não humano para uso no tratamento profilático de distúrbios mamários durante o período seco do animal e impedir simultaneamente o defeito da mancha preta em produtos lácteos feitos com leite do animal, a formulação sendo arranjada para ser infundida no canal do mamilo do animal, em que a quantidade da formulação de vedação do mamilo infundida é suficiente para formar uma barreira física à entrada de microrganismos no canal do mamilo e em que a formulação selante do mamilo não causa defeito de mancha negra em produtos lácteos feitos com leite do animal.

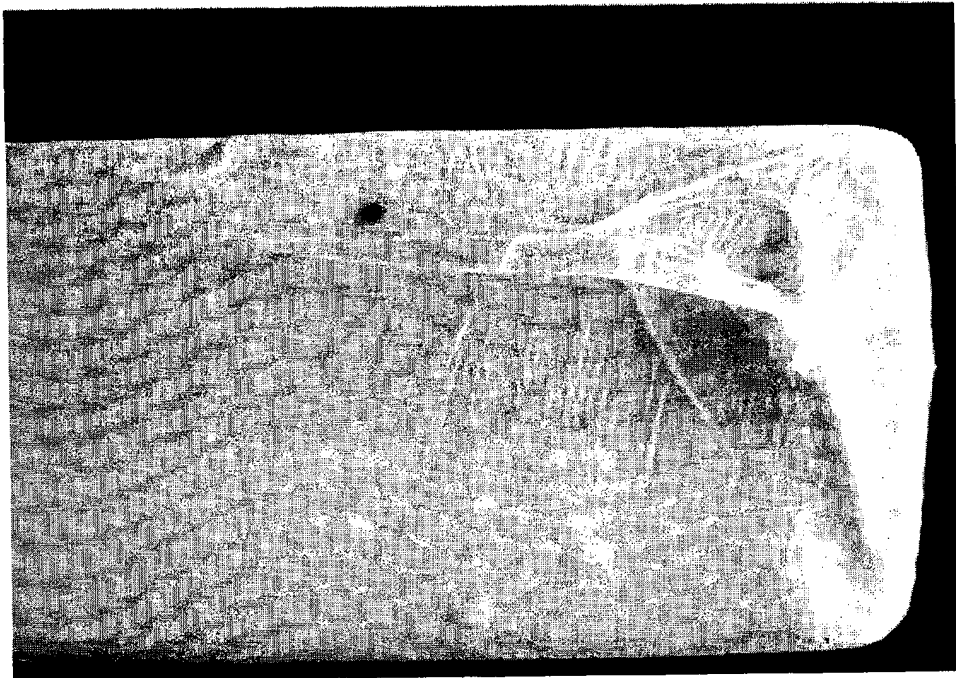


FIG. 1A

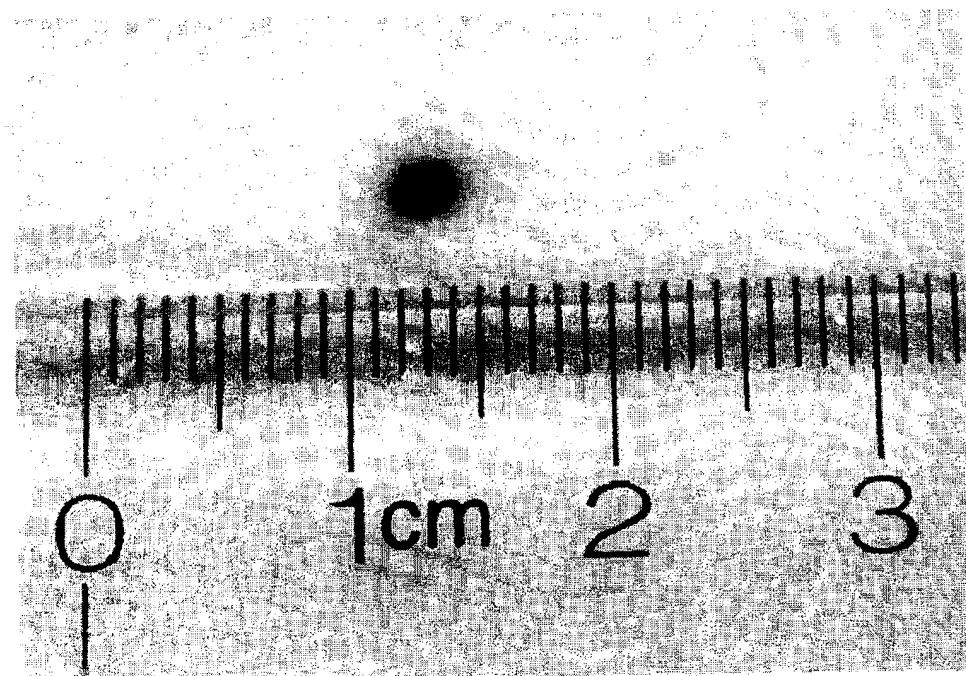


FIG. 1B

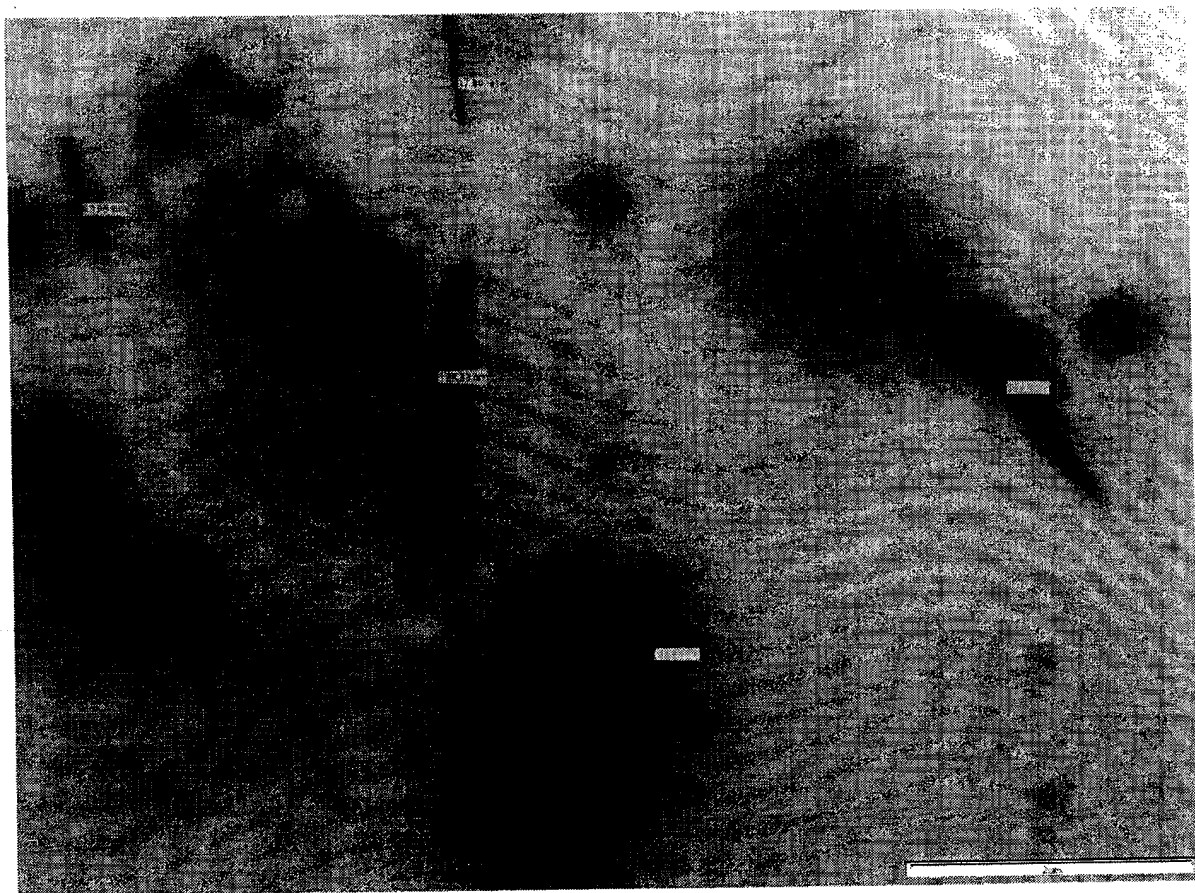


FIG. 2

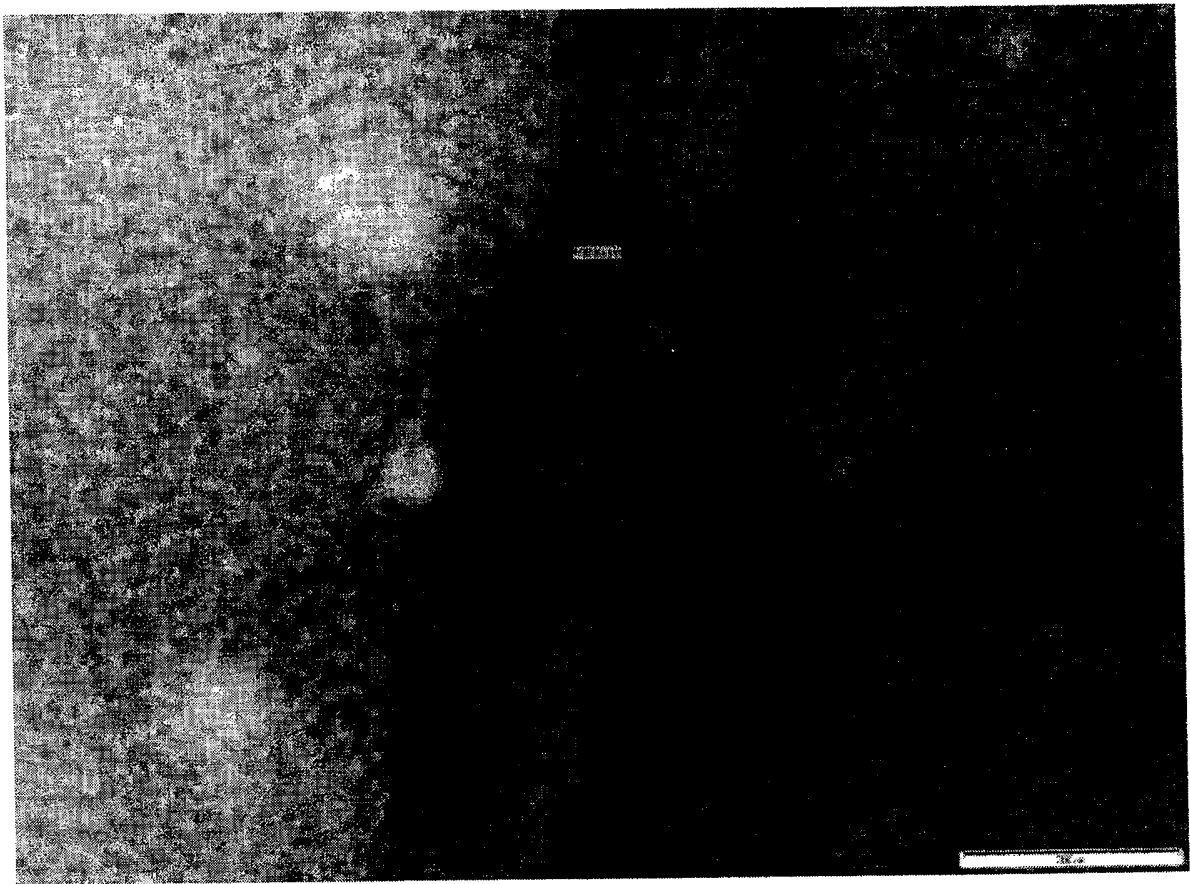


FIG. 3

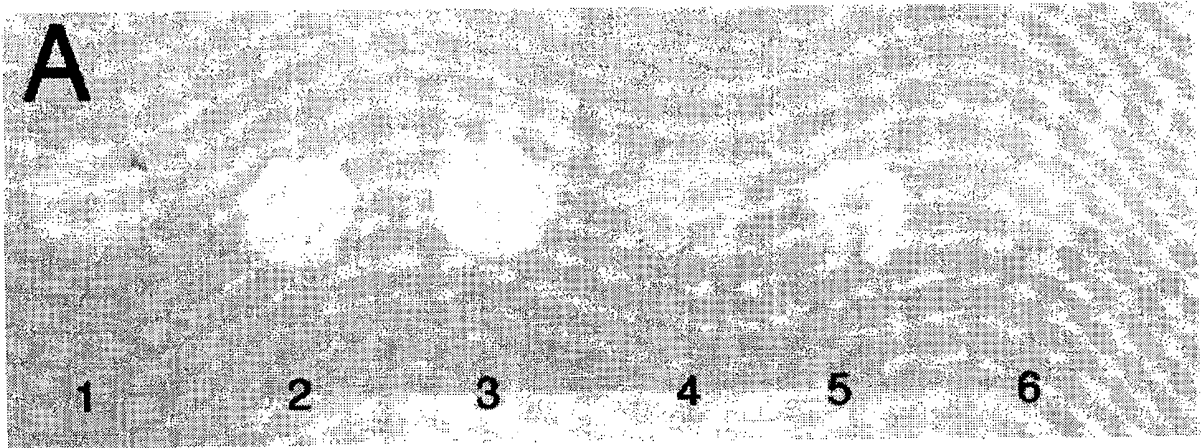


FIG. 4A

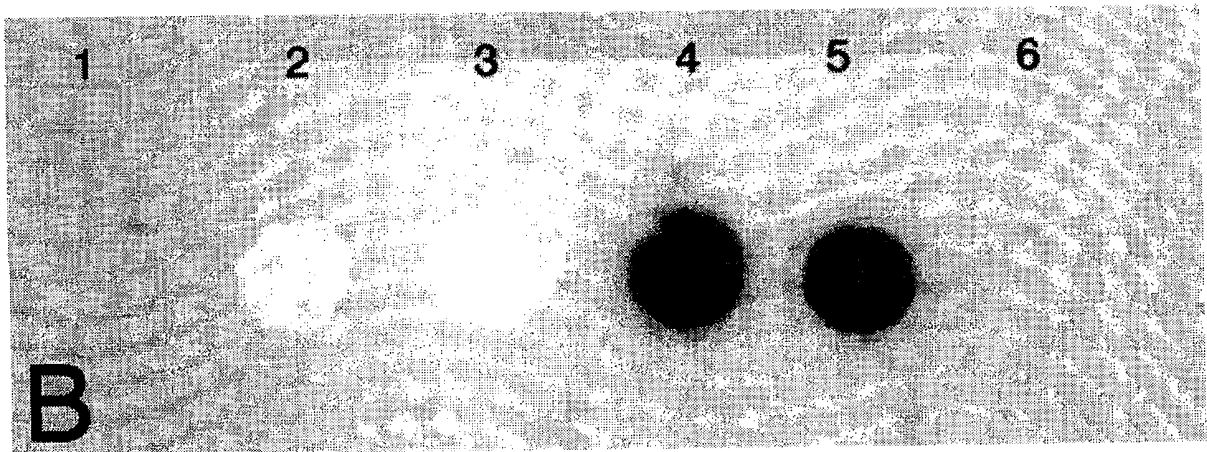


FIG. 4B

Tabela 5

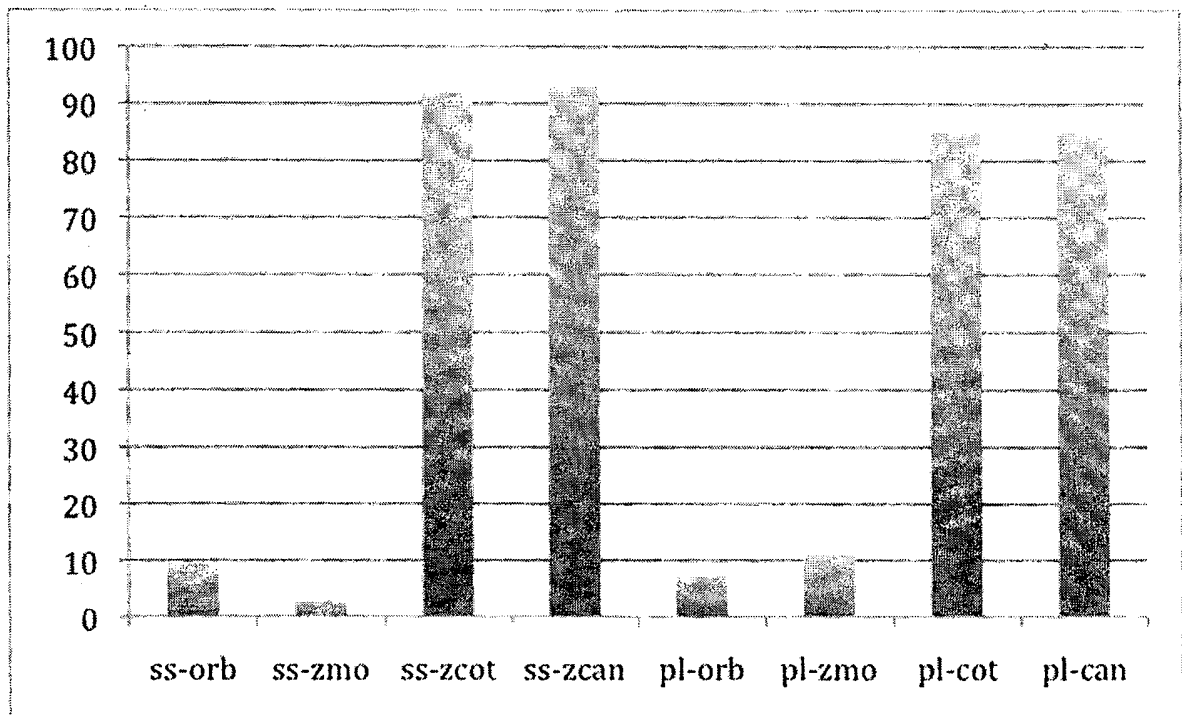


FIG. 5

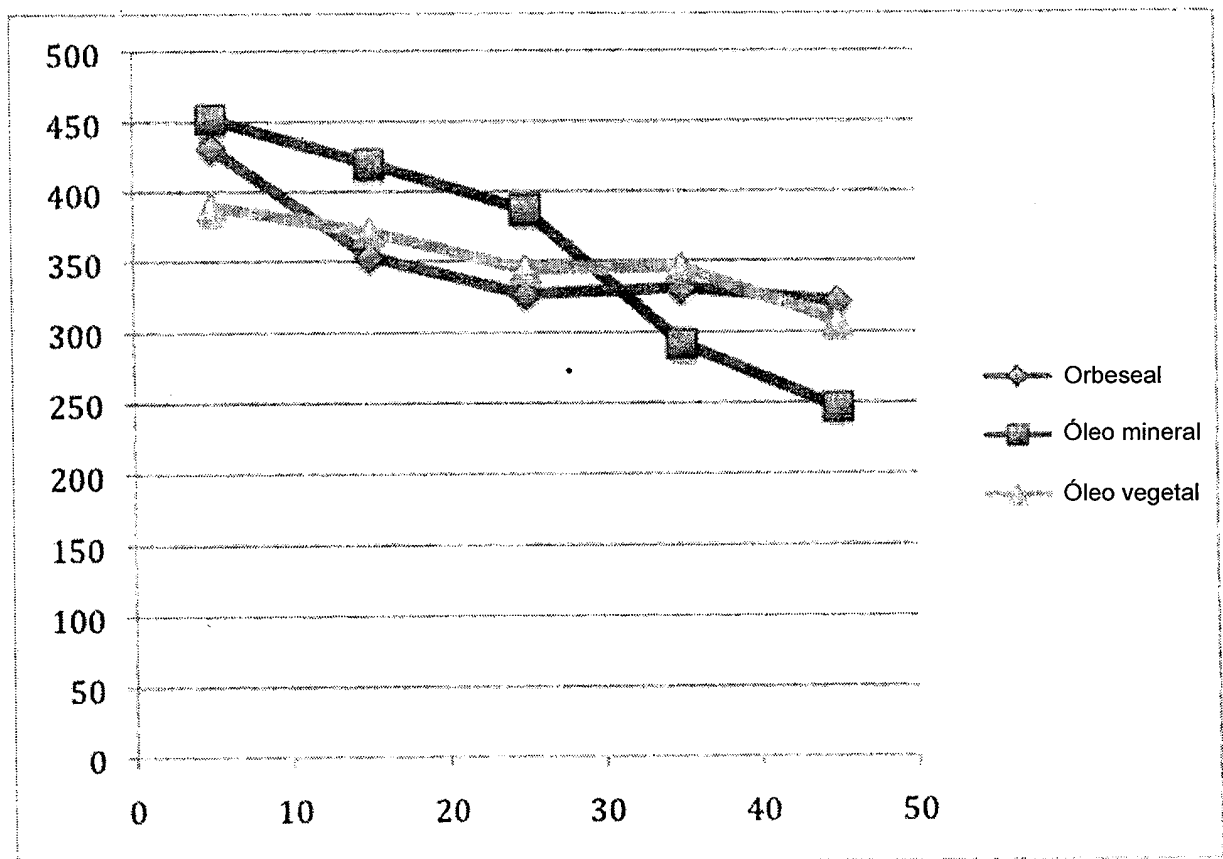


FIG. 6