



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

(21) PI 0714379-6 A2



(22) Data de Depósito: 21/06/2007  
(43) Data da Publicação: 19/02/2013  
(RPI 2198)

(51) Int.CI.:  
A01N 25/00

**(54) Título:** MÉTODO PARA HIGIENIZAÇÃO DE UM MATERIAL, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA TRATAMENTO DE UM MATERIAL, E MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO

**(30) Prioridade Unionista:** 14/07/2006 US 11486736

**(73) Titular(es):** Spectrum Enterprises, Llc

**(72) Inventor(es):** Aziz C. Awad

**(74) Procurador(es):** Walter de Almeida Martins

**(86) Pedido Internacional:** PCT US2007014486 de  
21/06/2007

**(87) Publicação Internacional:** WO 2008/008161 de  
17/01/2008

**(57) Resumo:** MÉTODO PARA HIGIENIZAÇÃO DE UM MATERIAL, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA TRATAMENTO DE UM MATERIAL, E MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO. Trata-se de uma composição e um método para higienização ou outra forma de tratamento de um material tal como uma superfície não viva, um tecido vivo, solo ou atmosfera que podem encontrar-se contaminados por uma toxina, por um microorganismo ou outro agente infeccioso. São também descritos métodos de fabricação da composição.

MÉTODO PARA HIGIENIZAÇÃO DE UM MATERIAL, COMPOSIÇÃO, MÉTODO  
PARA TRATAMENTO DE UM MATERIAL, E MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE  
UMA COMPOSIÇÃO

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

5 (1) Campo da invenção

A presente invenção refere-se a composições e métodos para higienização ou outra forma de tratamento de um material. As composições aperfeiçoam o efeito descontaminante dos alcanóis inferiores contendo de 1 até 6 átomos de carbono ( $C_1-C_6$ ). As composições desinfetam ou higienizam de outra forma materiais tais como tecidos vivos (pele, mãos, etc.) e objetos inanimados (instrumentos, equipamentos de uso em medicina, instalações militares e civis, mobiliário, papéis e materiais impressos, etc.) relativamente a contaminantes prejudiciais incluindo, sem limitações, agentes de guerra química, VX, mostarda, sarin, soman, e tabun), toxinas, protozoários, insetos (por exemplo, vetores de doenças), e agentes infecciosos patogênicos tais como bactérias, fungos, vírus, esporos fúngicos e bacterianos, e prions com conformação alterada (CJD, CWD, BSE, Scrapie).

20 (2) Descrição da Técnica Anterior

Os germicidas incluem tanto anti-sépticos quanto desinfetantes. Os anti-sépticos são germicidas que são aplicados a tecidos vivos e à pele, ao passo que os desinfetantes são agentes anti-microbianos que são

aplicados somente a objetos inanimados. Em geral, os anti-sépticos são utilizados somente na pele e não para desinfecção de superfícies, e os desinfetantes não são utilizados para assepsia da pele devido ao fato de poderem causar danos à pele e outros tecidos (Rutala e Weber, 2004).

No passado, a desinfecção de superfícies duras não requeria uma decisão importante: Era possível utilizar uma forma comum de detergente em pó, alvejante, ou um pó abrasivo. Fim de discussão. Presentemente, os desinfetantes para superfícies duras preenchem corredores inteiros de lojas de varejo e podem incluir muitos produtos especializados tais como desinfetantes para banheiro, para vasos sanitários, para vidro, para cerâmica, e desinfetantes para cozinha de diversos tipos, agentes abrasivos em pó e creme, e agentes de limpeza. Um motivo para o aumento do número de desinfetantes para superfícies duras reside no simples fato de que as atuais superfícies duras incluem muitos mais tipos de materiais que no passado. Por exemplo, no passado, os acabamentos de cozinhas e banheiros eram principalmente de madeira ou outras superfícies naturais, ao passo que as contrapartidas modernas desses materiais incluem aço inoxidável, plástico, fibra de vidro, cerâmica, mármore, esmalte e porcelana, para nomear apenas alguns, criando novos desafios de desinfecção.

Por outro lado, recentemente, foi novamente dada

ênfase à higiene das mãos e ao bem-estar da pele em resultado da publicação da entidade Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [Centros para Controle e Prevenção de Doenças] intitulada "Guideline for Hand Hygiene in Healthcare Settings" [Diretriz para Higiene das Mãos em Ambientes de Tratamento de Saúde]. A higiene das mãos é a mais importante ação individual passível de reduzir o alastramento de infecções em hospitais. A entidade, ligada à CDC, National Nosocomial Infections Surveillance system (NNIS) [sistema Nacional de Vigilância de Infecções Hospitalares], que reúne dados de cerca de trezentos hospitais, estima que existam nos hospitais dos Estados Unidos da América dois milhões de infecções associadas com a área de saúde a cada ano, responsáveis por cerca de 90.000 falecimentos anualmente e US\$ 4,5 bilhões de excesso de custos de tratamentos de saúde. Os documentos da literatura atual relatam níveis inaceitavelmente baixos de higiene das mãos entre trabalhadores de serviços de saúde ("Healthcare Workers" - HCW's). Existem vários motivos que influenciam o cumprimento da obrigação de lavar as mãos por partes dos HCW's: (1) ausência de fácil acesso aos lavatórios; (2) o fato de a lavagem das mãos deixar as mãos secas e irritadas; (3) os HCW's encontram-se freqüentemente muito ocupados para lavarem as mãos com sabão e água com suficiente freqüência; (4) falta de conhecimento quanto às ocasiões em que deverá ser feita a higiene das mãos, incluindo contatos acidentais,

anteriormente e após o uso de luvas, etc.

Os sabões são produtos baseados em detergentes que contêm ácidos graxos esterificados e hidróxido de sódio ou potássio. Os sabões comuns possuem pouca ou nenhuma atividade anti-microbiana. Em diversos estudos, a lavagem das mãos com sabão comum não removeu agentes patogênicos das mãos de funcionários de hospitais, e ocasionalmente os sabões comuns ficaram contaminados, podendo causar colonização das mãos dos funcionários com bacilos gram-negativos (Boyce e Pittet, 2002). Os higienizadores para mãos à base de álcool foram introduzidos em instalações de saúde para auxiliar os HCW's a aderirem às diretrizes recomendadas de higiene das mãos. O CDC legitimou os higienizadores baseados em álcool devido ao fato de reconhecer que a eficácia dos higienizadores de álcool era superior à do sabão e água para redução do número de germes nas mãos. Entretanto, os álcoois não são recomendados para esterilização de materiais médicos e cirúrgicos principalmente devido a sua ausência de ação de combate a esporos e sua incapacidade de penetrar materiais ricos em proteínas (Rutala e Weber, 2004). A maioria dos antisépticos para as mãos baseados em álcool contém alternativamente isopropanol, etanol, n-propanol, ou uma combinação de dois destes produtos. A maioria dos estudos sobre os álcoois avaliaram álcoois individuais em diversas concentrações. Outros estudos focalizaram-se em combinações de dois álcoois ou soluções alcoólicas contendo quantidades

limitadas de hexaclorofeno, compostos de amônio quaternário, povidona-iodo, triclosan, ou gliconato de clorhexidina.

A patente norte-americana nº US 4.200.655 concedida 5 a Farah e outros divulga composições contendo álcool benzílico como ingrediente ativo, destinadas a utilização tópica antiviral tanto *in vivo* quanto *in vitro*, particularmente para utilização nas mãos e particularmente para prevenção de transmissão de rinovírus.

A patente norte-americana nº US 4.446.153 concedida 10 a Yang divulga uma composição higienizadora para a pele particularmente adequada como produto para imersão ou lavagem de tetas de vacas leiteiras compreendendo pelo menos um fenil alcanol como ingrediente anti-séptico.

A patente norte-americana nº US 4.695.453 concedida 15 a Tuominen e outros divulga composições anti-bacterianas alcoólicas espessadas contendo preferencialmente etanol, propanol, e álcool benzílico como ingredientes ativos.

A patente norte-americana nº US 4.956.175 concedida 20 a Maignan e outros divulga a utilização de composições de gel anti-microbiano com elevado teor de álcool para desinfecção das mãos incluindo agentes umectantes e condicionadores.

A patente norte-americana nº US 6.022.551 concedida 25 a Jampani e outros divulga uma composição anti-microbiana compreendendo um agente anti-microbiano selecionado do grupo que consiste em mais de 30% por volume de álcool e

uma quantidade eficaz de triclosan; e uma quantidade eficaz de fenóxi etanol, uma quantidade eficaz de cloreto de benzalcônio ou cloreto de benzetônio; e uma quantidade eficaz de PHOSPOLITE CDM. Esta composição anti-microbiana é  
5 destinada a uso tópico, tal como para as mãos.

A patente norte-americana nº US 6.248.343 concedida a Jampani e outros refere-se a composições anti-microbianas que proporcionam adicionalmente benefícios terapêuticos para a pele. A invenção divulga uma composição anti-  
10 microbiana compreendendo um agente anti-microbiano selecionado do grupo que consiste em mais de 30% por volume de álcool, uma quantidade eficaz de triclosan e misturas respectivas; uma quantidade eficaz de fenóxi etanol, uma quantidade eficaz de cloreto de benzalcônio ou cloreto de  
15 benzetônio; e uma quantidade eficaz de PHOSPOLIPID CDM; e uma quantidade eficaz de uma planta de ocorrência natural ou extrato da mesma.

A patente norte-americana nº US 6.617.294 concedida a Narula e outros descreve um produto higienizador de  
20 limpeza para as mãos sem água compreendendo uma quantidade eficaz de álcool para produzir uma redução de microorganismos sobre a superfície da pele, e emolientes ou óleos para hidratação da pele.

A Publicação de Pedido de Patente Norte-Americana  
25 nº 2005/0271595 em nome de Brown divulga uma composição higienizadora na forma de um gel ou líquido viscoso adequada para utilização como composição para lavagem das

mãos compreendendo álcool, água, um agente espessante, e agentes anti-microbianos.

O Pedido de Patente Europeu N° 82110376.9 descreve um agente esterilizante aquoso para alimentos ou máquinas de utensílios de processamento de alimentos, compreendendo etanol e pelo menos uma substância alcalina como ingredientes ativos.

O Pedido de Patente Europeu N° 83303799.7 refere-se a soluções desinfetantes aquosas com atividade biocida residual para desinfecção de superfícies duras em hospitais, compreendendo entre 60 e 80% volume/volume de alanol C<sub>1</sub> até C<sub>4</sub> e pelo menos dois agentes antimicrobianos com uma concentração combinada na solução de até 2% peso/volume. O primeiro agente antimicrobiano é um composto de biguanida e o segundo é um composto de amônio quaternário.

A patente norte-americana nº US 4.678.658 concedida a Casey e outros descreve um "spray" aerossol para utilização na desinfecção de uma superfície com uma aspersão fina consistindo essencialmente em álcool de alquila inferior, um agente tensoativo desinfetante, um corante sensível a pH, e meios alcalinos para ajuste do pH do fluido para produção de uma cor no líquido de tal forma que após uma rápida neutralização pelo ar o corante perde a cor.

A patente norte-americana nº US 5.180.749 concedida a Cusack e outros divulga uma composição antimicrobiana

aquosa que inclui até cerca de 30 por cento por peso de álcool etílico e cerca de 2 até 5 por cento por peso de álcool benzílico com o restante até 100% consistindo em água, e um método de utilização da composição para destruir 5 ou reduzir o número de micróbios sobre uma superfície inanimada contaminada com os mesmos.

A Publicação de Pedido de Patente Norte-Americana N° 2004/0213750 em nome de Bennett e outros divulga uma composição aquosa para tratamento anti-microbiano de 10 superfícies duras compreendendo um álcool e um agente de ajuste de pH de tal forma que a faixa de pH da composição é de cerca de 7,0 até cerca de 13,0.

A Publicação de Pedido de Patente Norte-Americana N° 2005/0202137 em nome de Awad descreve um método para 15 higienização de carne vermelha para consumo humano com uma solução aquosa contendo um alanol inferior e agentes modificadores de pH.

A patente norte-americana nº US 6.821.940 concedida a Bullock e outros descreve dispositivos esfregadores pré-20 umedecidos contendo um substrato e uma composição de limpeza utilizando ingredientes toxicologicamente aceitáveis para tratamento de alimentos tais como verduras, por exemplo, frutas e vegetais, proteínas animais comestíveis, brinquedos, cadeiras para bebês e similares.

25 A ampla presença de diarréia associada a serviços de saúde causada por *Clostridium difficile* e a recente ocorrência nos Estados Unidos da América de infecções por

*Bacillus anthracis* (11 casos de inalação de antraz e 11 casos de antraz cutâneo) como resultado da exposição intencional ao *Bacillus anthracis* através de correspondências contaminadas causou preocupações relativamente à atividade de agentes anti-sépticos e desinfetantes contra bactérias formadoras de esporos. Mais recentemente, um funcionário de laboratório contraiu antraz em resultado de contato com a superfície de frascos contendo *Bacillus anthracis* (Page e outros, 2002). Nenhum dos agentes relatados na técnica anterior (incluindo álcoois, clohexidina, hexaclorofeno, iodoforos, PCMX, e triclosan) quer utilizados em preparações anti-sépticas (para lavagem das mãos ou para esfregar as mãos) ou em desinfetantes para superfícies duras constituem esporicidas confiáveis contra *Clostridium* spp. ou *Bacillus* spp. (Boyce e Pittet, 2002). Adicionalmente, alguns destes agentes (por exemplo, o triclosan) foram associados a bactérias resistentes a antibióticos em testes de laboratório. Exemplos de reagentes esporicidas, utilizando concentrações relativamente elevadas, incluem glutaraldeído, formaldeído, compostos de óxi ácidos de cloro, peróxi ácidos, e óxido de etileno. Em geral, todos estes compostos são considerados tóxicos. Por outro lado, todos os agentes anti-microbianos químicos relatados na técnica anterior (sejam ou não esporicidas), incluindo esterilização por óxido de etileno, etanol, formalina, beta-propiolactona, detergentes, compostos de amônio quaternário, solução desinfetante

Lysol® (Reckitt Benckiser, Berkshire, Reino Unido), iodo alcoólico, acetona, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio e dióxido de cloro, são ineficazes para inativação das características infecciosas de prions 5 infecciosos com conformação alterada (Rosenberg e outros, 1986), e seus efeitos sobre agentes de guerra química não se encontram relatados.

As ameaças de terroristas envolvendo agentes químicos e biológicos, no contexto de armas de destruição 10 em massa, constituem questões importantes para órgãos de defesa nacional e para as polícias locais. Durante várias décadas, essas preocupações ficaram restritas ao domínio das forças armadas dos Estados Unidos da América e aos laboratórios nacionais de armamentos, com fundos providos 15 pelo Departamento de Energia ou pela Agência de Projetos de Pesquisa Avançada de Defesa. De acordo com os cientistas, as futuras armas de bioterrorismo podem incluir agentes patogênicos produzidos por engenharia genética, prions, e bio-reguladores (Brown, 2004). Durante um ataque simulado 20 de "bomba suja" realizado em Seattle na primavera de 2003, uma das lições aprendidas consistiu no fato de as entidades encarregadas de responder a um ataque desse tipo não terem nada que fosse capaz de conter o alastramento da poeira radioativa (Weiss, 2005). Da mesma forma, em caso de 25 dispersão de agentes de guerra biológica e química, caso venha a ocorrer um ataque terrorista, é igualmente muito difícil, senão mesmo impossível, realizar a contenção dos

efeitos utilizando tecnologia da técnica anterior. Caso venha a ocorrer um ataque em larga escala, os autores do ataque irão provavelmente monitorar a velocidade e eficiência do trabalho de limpeza para decidirem se deverão 5 ou não desencadear outro ataque. A descontaminação de antraz do edifício Hart Senate Office Building (Hsu, 2002), utilizando dióxido de cloro, levantou questões sobre a prontidão para se lidar com ataques biológicos em larga escala. O dióxido de cloro e o hipoclorito de sódio 10 (alvejante doméstico) são utilizados para desinfecção de superfícies em ambientes e não são utilizados como anti-sépticos para aplicação à pele.

A patente norte-americana nº US 6.566.574 concedida a Tadros e outros ensina a utilização de uma formulação 15 aquosa para neutralização tanto de agentes químicos quanto de agentes biológicos. A formulação compreende pelo menos dois agentes solubilizantes (um agente tensoativo catiônico tal como sais de amônio quaternário e um hidrotropo catiônico tal como brometo de tetrapentil amônio), pelo 20 menos um composto reativo de água para produção de uma formulação aquosa. Os problemas técnicos associados a esta tecnologia incluem: (1) a necessidade de uma formulação diferente para cada agente químico e biológico específico; (2) não tem efeito sobre príons infecciosos; (3) não pode 25 ser utilizado em tecidos vivos, por exemplo, tratamento tópico da pele, devido ao caráter corrosivo e tóxico dos reagentes utilizados; (4) não pode ser utilizado para

descontaminação de produtos alimentícios, no caso de um ataque agro-terrorista, devido ao fato de os reagentes utilizados não terem classificação com alimentos (GRAS); e (5) não pode ser utilizado em instalações hospitalares como higienizador para as mãos com o objetivo de substituir sabão e água.

A Publicação de Pedido de Patente Norte-Americana Nº 2004/0022867 em nome de Tucker e outros ensina a utilização de uma formulação aquosa para neutralização de agentes tóxicos que compreende pelo menos dois agentes solubilizantes (um agente tensoativo catiônico e um hidrotropo catiônico), um composto reativo (selecionado do grupo que consiste em peróxido de hidrogênio, peróxido de uréia hidrogênio, hidroperóxicarbonato, ácido peracético, perborato de sódio, peróxipirofosfato de sódio, peróxisilicato de sódio, e percarbonato), um ativador de alvejamento, e um aditivo absorvente. As questões técnicas associadas com esta tecnologia incluem: (1) preparação da composição em campo devido à instabilidade do ativador de alvejamento; (2) tempo de vida útil em prateleira curto (cerca de oito horas) não podendo portanto ser utilizado em instalações hospitalares como higienizador para as mãos em substituição de sabão e água; (3) sem efeito sobre prions infecciosos; (4) sem possibilidade de utilização em feridas, por exemplo, tratamento tópico de pele ferida, devido ao caráter corrosivo e tóxico dos reagentes utilizados; e (5) impossibilidade de utilização para

descontaminação de produtos alimentícios, no caso de um ataque agro-terrorista, na medida em que os reagentes utilizados não têm classificação como alimentos (GRAS).

Coletivamente, a técnica anterior reconheceu a necessidade real e constante de uma formulação única, eficaz, de caráter geral, segura para seres humanos e para o meio ambiente, e fácil de utilizar, para descontaminar tanto objetos inanimados quanto tecidos vivos relativamente a contaminantes prejudiciais consistindo em produtos utilizados em guerra química (VX, mostarda, sarin, soman, e tabun), toxinas, insetos (por exemplo, vetores de doenças), e agentes infecciosos patogênicos tais como bactérias, fungos, vírus, esporos fúngicos e bacterianos, e príons com conformação alterada (CJD, CWD, BSE, Scrapie).

15

#### OBJETIVOS

Um objetivo da presente invenção consiste na provisão de composições e métodos para higienização de um material. Estes e outros objetivos irão tornar-se crescentemente aparentes mediante referência à discussão a seguir.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona um método para aperfeiçoamento dos espectros germicidas e esporicidas e atividades de alcanóis inferiores ( $C_1 - C_6$ ) para desinfecção de tecidos vivos (pele, mãos, etc.) e objetos inanimados (instrumentos, papéis e materiais impressos, equipamentos médicos, superfícies duras, instalações

militares e civis, etc.) com características sem precedentes em termos de rapidez, economia, segurança, suavidade, e efeitos anti-microbianos residuais.

Adicionalmente, a presente invenção proporciona uma

5 composição de alanol inferior ( $C_1 - C_6$ ) que pode descontaminar a pele/feridas após exposição a um agente de guerra química e biológica ("Chemical and Biological Warfare" - CBW) para contenção e destruição do CBW prevenindo penetração cutânea e contaminação adicional. A

10 composição pode descontaminar vegetais frescos tais como maçãs, cenourinhas, morangos, pedaços de queijo duro, cascas de ovo, e carcaças de carne vermelha fresca para eliminação de agentes infecciosos tais como príons com conformação alterada, bactérias, fungos, parasitas e vírus

15 para provisão dos níveis mais elevados possíveis de proteção sanitária para os consumidores. Ainda adicionalmente, a composição pode ser utilizada para descontaminação de subprodutos animais utilizados em rações, dessa forma substituindo as técnicas de

20 processamento tradicionais. Ainda adicionalmente, a composição pode ser utilizada para descontaminar residências, materiais de construção, e mobiliário infectado com esporos de fumagina ("black mold"). A composição pode ser utilizada para controle de vetores de

25 insetos (por exemplo, ácaros, mosquitos, etc.) para redução da transmissão de agentes patogênicos infecciosos. Ainda adicionalmente, a composição contém materiais que são

considerados como Geralmente Reconhecidos Como Seguros ("Generally Recognized As Safe" - GRAS), por exemplo, de classificação adequada para alimentação, para proteção contra possível uso equivocado pelo consumidor.

5                 Desta forma, a presente invenção proporciona um método para higienização de um material que compreende: (a) provisão de uma composição aquosa que compreende uma mistura de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono e um derivado de ácido graxo que é um sal ou éster  
10 com um pH de cerca de 14 ou superior, em que o derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição; e (b) aplicação da composição ao material em uma quantidade eficaz para higienizar o material; e opcionalmente removendo-se uma composição resultante da  
15 etapa (b).

Em configurações adicionais do método o derivado de ácido graxo é um sal de metal alcalino ou alcalino terroso. Em configurações adicionais, o ácido graxo é um sal de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li), cálcio (Ca) ou  
20 magnésio (Mg). Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um álcali ou sal de metal alcalino de um ácido graxo compreendendo 4 até 22 átomos de carbono. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um sal de metal alcalino ou alcalino terroso  
25 de ácido láurico. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo consiste em laurato de potássio. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é

um éster selecionado do grupo que consiste em um éster butílico, um éster etílico, um éster metílico, acilgraxo-Coenzima A, éster de sacarose e um monoglicerídeo. Em configurações ainda adicionais, o monoglycerídeo comprehende 5 uma fração glicerol ligada por ligação éster ou por ligação éter a um ou mais ácidos graxos possuindo de 4 até 22 átomos de carbono ou a um ou mais álcoois graxos saturados ou insaturados possuindo de 8 até 16 átomos de carbono. Em configurações ainda adicionais, a toxina é uma toxina 10 *Stachybotrys*. Em configurações adicionais, o microorganismo ou outro agente infeccioso é um fungo, uma bactéria, um esporo fúngico, um esporo bacteriano, um vírus ou um príon de conformação alterada. Em configurações ainda adicionais, o esporo fúngico é um esporo *Stachybotrys chartarum*. Em 15 configurações ainda adicionais, o esporo bacteriano é um esporo *Bacillus atropheus*. Em configurações ainda adicionais, o agente de guerra química é VX, mostarda, sarin, soman, ou tabun. Em configurações ainda adicionais, o príon com conformação alterada é selecionado do grupo que 20 consiste em CJD, CWD, BSE, e Scrapie.

A presente invenção proporciona uma composição que comprehende em uma mistura: um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono; e um derivado de ácido graxo que é um sal ou éster solúvel no alanol, em que a composição tem 25 um pH de 14 ou mais em que o derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição. Em configurações adicionais, a composição é provida como

uma solução aquosa. Em configurações adicionais, o alanol inferior é metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol ou misturas dos mesmos. Em configurações adicionais, o derivado de ácido graxo é um sal de metal 5 alcalino ou alcalino terroso. Em configurações ainda adicionais, o ácido graxo é um sal de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li), cálcio (Ca) ou magnésio (Mg). Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um álcali ou sal de metal alcalino de um ácido graxo 10 compreendendo 4 até 22 átomos de carbono. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um álcali ou sal de metal alcalino de ácido láurico. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é laurato de potássio. Em configurações ainda adicionais, o derivado de 15 ácido graxo é um éster selecionado do grupo que consiste em um éster butílico, um éster etílico, um éster metílico, acilgraxo-Coenzima A, éster de sacarose e um monoglicerídeo. Em configurações ainda adicionais, o monoglicerídeo compreende uma fração glicerol acoplada por 20 uma ligação éster ou uma ligação éter a um ou mais ácidos graxos possuindo de 4 até 22 átomos de carbono ou acoplada a um ou mais álcoois graxos saturados ou insaturados possuindo de 8 até 16 átomos de carbono. Em configurações ainda adicionais, a composição compreende adicionalmente um 25 ou mais ingredientes selecionados do grupo que consiste em agentes espessantes, emolientes, umectantes, inibidores de corrosão, agentes de propulsão, perfumes, agentes

flavorizantes, des-espumantes, anti-oxidantes e corantes.

A presente invenção proporciona um método para tratamento de um material, que compreende: (a) provisão de uma composição aquosa que compreende uma mistura de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono e um derivado de ácido graxo que é um sal ou éster com um pH de cerca de 14 ou superior, em que o derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição; e (b) aplicação da composição ao material em uma quantidade eficaz para tratar o material. Em configurações adicionais, uma composição resultante da etapa (b) é removida do material.

A presente invenção proporciona um método para preparação de uma composição, que compreende: provisão de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono; provisão de um derivado de ácido graxo que é um sal ou éster solúvel no alanol; e mistura do alanol inferior e do derivado de ácido graxo para provisão da composição, em que a composição tem um pH de 14 ou superior e em que o derivado de ácido graxo compreende entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição. Em configurações ainda adicionais, o alanol inferior é etanol. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um sal de metal alcalino ou alcalino terroso. Em configurações ainda adicionais, o ácido graxo é um sal de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li), cálcio (Ca) ou magnésio (Mg). Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é

um álcali ou sal de metal alcalino de um ácido graxo compreendendo 4 até 22 átomos de carbono. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um álcali ou sal de metal alcalino de ácido láurico. Em configurações 5 ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é laurato de potássio. Em configurações ainda adicionais, o derivado de ácido graxo é um éster selecionado do grupo que consiste em um éster butílico, um éster etílico, um éster metílico, acilgraxo-Coenzima A, éster de sacarose e um 10 monoglicerídeo. Em configurações ainda adicionais, o monoglycerídeo compreende uma fração glicerol acoplada por uma ligação éster ou uma ligação éter a um ou mais ácidos graxos possuindo de 4 até 22 átomos de carbono ou acoplada a um ou mais álcoois graxos saturados ou insaturados 15 possuindo de 8 até 16 átomos de carbono.

A presente invenção proporciona um método para preparação de uma composição, que compreende: provisão de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono; provisão de um ácido graxo; provisão de um agente de 20 alcalinização; e mistura do alanol inferior, do ácido graxo e do agente de alcalinização para provisão da composição, em que a composição tem um pH de 14 ou superior e em que o derivado de ácido graxo compreende entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição. O alanol inferior é 25 etanol. Em configurações ainda adicionais, o ácido graxo é um ácido graxo compreendendo 4 até 22 átomos de carbono. Em configurações ainda adicionais, o ácido graxo é ácido

láurico. Em configurações ainda adicionais, o agente de alcalinização é selecionado do grupo que consiste em um hidróxido de metal alcalino, hidróxidos de metais alcalinos terrosos, carbonatos de hidrogênio ou metal alcalino e misturas dos mesmos. Em configurações ainda adicionais, o agente de alcalinização é selecionado do grupo que consiste em hidróxido de amônio, hidróxido de alumínio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de lítio, hidróxido de cálcio, hidróxido de magnésio, carbonato de sódio, hidrogênio carbonato (bicarbonato) de sódio, e misturas dos mesmos.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

As Figuras 1A-E ilustram o efeito de diferentes concentrações da composição FB na eliminação de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*). A Figura 1A ilustra o efeito de 100% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1B ilustra o efeito de 60% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1C ilustra o efeito de 50% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1D ilustra o efeito de 40% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1E ilustra o efeito de 30% de FB na redução de esporos de fumagina.

A Figura 2 é um gráfico ilustrativo do efeito de diferentes concentrações (30, 60, e 100%) da composição (FB) na eliminação de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*).

As Figuras 3A-C ilustram o efeito de diferentes

concentrações de alvejante doméstico Clorox® na eliminação de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*). A Figura 3A ilustra o efeito de uma concentração de 12,5% de NaOCl na eliminação de esporos de fumagina. A Figura 3B ilustra o efeito de uma concentração de 7,5% de NaOCl na eliminação de esporos de fumagina. A Figura 3C ilustra o efeito de uma concentração de 3,75% de NaOCl na eliminação de esporos de fumagina.

A Figura 4 ilustra o efeito de diferentes concentrações de alvejante de cloro (3,75, 7,5, e 12,5% de hipoclorito de sódio) na eliminação de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*).

A Figura 5 ilustra o efeito da composição (50% de FB) e do alvejante doméstico Clorox® em carpetes inoculados com esporos de *Stachybotrys chartarum*.

A Figura 6 ilustra o efeito da composição (50% de FB) e do alvejante doméstico Clorox® em telhas inoculadas com esporos de *Stachybotrys chartarum*.

A Figura 7 ilustra o efeito da composição (50% de FB) e do alvejante doméstico Clorox® em papéis de impressão de uso geral inoculados com esporos de *Stachybotrys chartarum*.

A Figura 8 ilustra o crescimento de fumagina em carpetes inoculados com esporos de *Stachybotrys chartarum* e incubados durante 30 dias na escuridão.

A Figura 9 ilustra o crescimento de fumagina em papéis de impressão de uso geral inoculados com esporos de

*Stachybotrys chartarum* e incubados durante 30 dias na escuridão.

A Figura 10 ilustra o crescimento de fumagina em telhas inoculadas com esporos de *Stachybotrys chartarum* e 5 incubadas durante 30 dias na escuridão.

As Figuras 11A-F ilustram o efeito da aspersão da composição FB sobre madeira após inoculação da madeira com esporos de fumagina (*Stachybotrys chartarum*). As Figuras 11A e 11B ilustram a inoculação de esporos de fumagina em 10 madeira como material poroso. As Figuras 11C e 11D ilustram o desempenho de 50% de FB aspergida sobre madeira. As Figuras 11E e 11F ilustram o efeito de uma concentração de 1,84% de hipoclorito de sódio aspergido sobre madeira.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

15 Todas as patentes, pedidos de patente, publicações governamentais, regulamentações governamentais, e referências da literatura citadas no presente relatório descritivo são aqui incorporadas na íntegra a título de referência. Em caso de conflito, prevalecerá o presente 20 relatório descritivo, incluindo as definições.

O termo "CFU" conforme aqui utilizado, refere-se a unidades formadoras de colônia ("Colony Forming Units").

O termo "tratar" conforme é aqui utilizado é um termo amplo que significa revestir, mudar, alterar, variar, 25 e/ou modificar um material para que o material se torne diferente em um ou mais aspectos relativamente ao material de partida. O termo pode fazer referência a uma alteração

física e/ou química incluindo, porém não se limitando a uma tal alteração resultante de uma reação química, solubilização e/ou emulsionamento, que será igualmente abrangida pelo termo.

5 O termo "FB", conforme é aqui utilizado, refere-se a uma configuração da composição de acordo com a presente invenção conforme apresentada na Tabela 1.

O termo "material", conforme é aqui utilizado, refere-se a qualquer matéria sólida, líquida e/ou gasosa, 10 tal como porém não limitado a ar, um produto químico, uma superfície não viva, tecido vivo, solo ou uma atmosfera.

O termo "higienização" conforme é aqui utilizado refere-se a um decréscimo ou eliminação do nível ou da capacidade prejudicial de agentes capazes de causarem danos 15 à saúde de um animal vivo. Alguns exemplos de agentes capazes de serem danosos à saúde de um animal vivo são contaminantes, tais como mas não limitados a toxinas, agentes de guerra química, insetos, prions, microorganismos ou outros agentes infecciosos. Exemplos de higienização 20 incluem modificação química e degradação, mas entretanto a remoção dos agentes por solubilização é também abrangida pelo termo.

A presente invenção proporciona composições e métodos para aperfeiçoamento do efeito de descontaminação 25 de alcanóis inferiores contendo de 1 até 6 átomos de carbono ( $C_1 - C_6$ ) para higienização de materiais tais como, porém não limitados a, tecidos vivos (pele, mãos, etc.) e

objetos inanimados (instrumentos, equipamentos médicos, instalações militares e civis, mobiliário, papéis e materiais impressos, etc.) relativamente a contaminantes prejudiciais tais como, porém não limitados a agentes de guerra química (VX, mostarda, sarin, soman, e tabun), toxinas, protozoários, insetos (por exemplo vetores de doenças), e agentes infecciosos patogênicos tais como bactérias, fungos, vírus, esporos fúngicos e bacterianos, e príons com conformação alterada (CJD, CWD, BSE, Scrapie). O desafio permanente de desenvolvimento de novos germicidas consiste na obtenção de um compromisso entre segurança, comodidade, e eficiência. A facilidade de utilização e a segurança são tão importantes, e são por vezes mais importantes, que a utilização das tecnologias químicas mais eficientes. Os esporos bacterianos, os esporos fúngicos, e os príons infecciosos são altamente resistentes a agentes desinfetantes químicos e físicos. Os processos destinados a realizar a esterilização de alimentos, produtos farmacêuticos, materiais médicos e outros produtos deverão necessariamente levar em conta este elevado nível de resistência. A partir deste esquema, pode ser previsto que a atividade contra os agentes infecciosos mais resistentes (por exemplo, esporos de *Bacillus atropheus* e príons infecciosos) implica atividade contra os agentes infecciosos menos resistentes (por exemplo, bactérias vegetativas, vírus de lipídeos).

Nº 2005/0202137 (Pedido Nº US 11/031.935) em nome de Awad, aqui incorporada na íntegra a título de referência, ensina um método para tratamento de tecido biológico, particularmente carnes para consumo humano, para higienização do tecido. O método inativa microorganismos e prions patogênicos (proteínas) no tecido. O método compreende o tratamento do tecido com uma solução aquosa selecionada do grupo que consiste em um hidróxido de metal alcalino, um hidróxido de metal alcalino terroso e misturas dos mesmos e um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono de tal forma que quaisquer prions que entrarem em contato com a solução serão inativados. A presente invenção descreve um método para aperfeiçoamento das propriedades de descontaminação de alcanóis inferiores C1 - C6 mediante mistura dos mesmos com constituintes seguros GRAS essencialmente compreendendo derivados de ácidos graxos, agentes de alcalinização, água e misturas dos mesmos. Opcionalmente, podem ser adicionados um ou mais ingredientes selecionados do grupo que consiste em agentes espessantes, emolientes, umectantes, inibidores de corrosão, des-espumantes, agentes flavorizantes, agentes de propulsão, perfumes, anti-oxidantes, e corantes. As composições resultantes podem ser utilizadas para desinfecção de tecidos vivos (pele, mãos, etc.) e objetos inanimados (instrumentos, equipamentos médicos, instalações militares e civis, mobília, papéis e materiais impressos, etc.) relativamente a contaminantes prejudiciais.

consistindo em agentes de guerra química (VX, mostarda, sarin, soman, e tabun), toxinas, protozoários, insetos (isto é, vetores de doenças), e agentes infecciosos patogênicos tais como bactérias, fungos, vírus, esporos fúngicos e bacterianos, e prions com conformação alterada (CJD, CWD, BSE, Scrapie).

Adicionalmente, a atividade das composições é mantida durante um período de tempo considerável após a evaporação do solvente. Em um ataque com armas biológicas, 10 a primeira etapa terá que consistir na prevenção de futura migração dos agentes patogênicos. A imobilização de agentes de guerra biológica (por exemplo, esporos bacterianos, etc.) poderá igualmente permitir que os trabalhadores dos serviços de resgate realizem seus trabalhos sem ficarem 15 contaminados. Um aspecto muito importante da presente invenção reside no fato de que o filme resultante após a evaporação do solvente irá capturar fisicamente esporos bacterianos ou fúngicos, dessa forma prevenindo a re-suspensão dos esporos, que é uma causa principal da 20 transmissão de infecções e contaminação de superfícies de ambientes. As composições de acordo com a presente invenção podem ser preparadas com muita facilidade mediante simples mistura de quantidades medidas dos constituintes necessários com os alcanóis inferiores seguida por 25 quaisquer ingredientes opcionais e embalagem.

Os alcanóis inferiores ( $C_1 - C_6$ ) úteis na presente invenção são selecionados do grupo que consiste, sem

limitações, em metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, e misturas dos mesmos que se encontram presentes em uma quantidade de cerca de 3 até 95%. O etanol ou o isopropanol são os mais preferenciais. Exemplos de derivados de ácidos graxos adequados que seriam úteis para os propósitos da presente invenção incluem sais de metais alcalinos e alcalinos terrosos (Na, K, Li, Mg, etc.) de ácidos graxos contendo 4 até 22 átomos de carbono. Outros derivados de ácidos graxos úteis para os propósitos da presente invenção incluem derivados de éster tais como ésteres butílicos, ésteres etílicos, ésteres metílicos, acilgraxo-Coenzima A, ésteres de sacarose e monoglicerídeos de um ácido graxo desejável.

Os monoglycerídeos úteis para os propósitos da presente invenção são frações glicerol acopladas por ligações éster ou ligações éter a ácidos graxos possuindo desde 4 até 22 átomos de carbono ( $C_4 - C_{22}$ ) ou acopladas alternativamente a álcoois graxos saturados ou insaturados possuindo desde 8 até 16 átomos de carbono ( $C_8 - C_{16}$ ). Geralmente, observou-se que a inclusão de derivados de ácidos graxos em quantidades desde 0,1% por peso até cerca de 25% por peso, particularmente de 5 até 10% por peso, parece ser útil. Os derivados de ácido láurico são mais preferenciais.

Em algumas configurações preferenciais, os agentes de alcalinização são selecionados do grupo que compreende hidróxido de amônio, hidróxido de alumínio, hidróxidos de

metais alcalinos (Na, K, Li), hidróxidos de metais alcalinos terrosos (Ca, Mg), carbonatos de hidrogênio ou metal alcalino, por exemplo, carbonato de sódio ou hidrogênio carbonato (bicarbonato) de sódio, ou misturas 5 dos mesmos. Geralmente, a quantidade dos agentes de alcalinização pode variar desde 0,01% por peso até 10% por peso, e mais preferencialmente dentro da faixa de 3 até 6% por peso, por exemplo, 5% por peso.

As composições de acordo com a presente invenção 10 incluem água como solvente, e incluem mais preferencialmente água desionizada. A quantidade da água pode variar desde cerca de 5 até 95% por peso, e mais preferencialmente dentro da faixa de 15 até 60% por peso. As composições podem incluir opcionalmente agentes de 15 espessamento selecionados do grupo que consiste, sem limitações, em silica fumada, goma de xantano, pectina, goma de guar, hidroxil propil celulose, gelatina, gomas naturais, polietileno glicol, polipropileno glicol, carbóxipolimetileno, polímero cruzado de acrilato de 20 alquila C10-30/acrilatos, e ceras solúveis em água. Esse ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade eficaz. As composições podem também incluir opcionalmente um ou mais inibidores de corrosão. Exemplos de inibidores de corrosão adequados incluem mono e trietanolamina, 25 diciclohexil amina nitrito, e N,N-dibenzilamina, e esse ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade eficaz.

As composições de acordo com a presente invenção podem opcionalmente ser formuladas com emolientes e/ou umectantes. Os emolientes e/ou umectantes que podem ser utilizados são bem conhecidos e convencionais na técnica e incluem, sem limitações, propileno glicol, isopropil miristato, glicerina, acetamidopropil trimônio cloreto. Esse ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade eficaz. As composições podem também opcionalmente ser formuladas com agentes de propulsão convencionais para fornecimento como aerossóis para recipientes pressurizados convencionais. Exemplos de agentes de propulsão adequados incluem, sem limitações, isobuteno, n-butano, propano, dimetil éter e misturas dos mesmos; esse ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade eficaz. Adicionalmente, as composições podem opcionalmente incluir um ou mais perfumes. Qualquer material que proporcionar um aroma desejável poderá ser utilizado. São particularmente preferenciais óleos derivados de frutos cítricos, por exemplo, laranjas, limões, limas, etc. que contêm grandes quantidades de terpenos. Esse ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade eficaz.

As composições de acordo com a presente invenção podem opcionalmente incluir um ou mais des-espumantes. Exemplos de des-espumantes adequados incluem silicone (por exemplo, polidimetil siloxano), álcool alifático C<sub>8</sub> até C<sub>18</sub> ou fenol substituído por alquila C<sub>9</sub> até C<sub>12</sub> ou uma mistura dos mesmos. As composições podem também opcionalmente

incluir um ou mais anti-oxidantes. Exemplos de anti-oxidantes adequados incluem, sem limitações, tocoferóis (por exemplo, vitamina E, ou acetato de tocoferol), vitamina C e misturas das mesmas. Os ingredientes podem ser 5 incluídos em qualquer quantidade eficaz. As composições podem também opcionalmente incluir um ou mais corantes. Exemplos de corantes adequados incluem, sem limitações, corantes dependentes de pH (por exemplo, corante azul de timoftaleína), corante não causador de manchas, e esse 10 ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade eficaz. As composições podem também opcionalmente incluir um ou mais agentes flavorizantes. Qualquer material que proporcione um sabor desejável pode ser utilizado, e o ingrediente pode ser incluído em qualquer quantidade 15 eficaz.

A presente invenção incorpora o efeito combinado de certos constituintes GRAS na atividade de descontaminação de alcanóis inferiores  $C_1 - C_6$  para propósitos de aperfeiçoamento do espectro germicida e esporicida e 20 atividades destes alcanóis. Os constituintes testados nos exemplos aqui divulgados foram selecionados do ponto de vista de segurança e incluem derivados de ácidos graxos, agentes de alcalinização, água e misturas dos mesmos. Opcionalmente, são igualmente incluídos na composição um ou 25 mais ingredientes selecionados de agentes espessantes, emolientes, umectantes, inibidores de corrosão, agentes de propulsão, perfumes, agentes flavorizantes, des-espumantes,

anti-oxidantes, e corantes. As composições de acordo com a presente invenção atacam agentes patogênicos em múltiplos pontos em seus ciclos de vida com mais de um composto antimicrobiano. Os compostos anti-microbianos inativam os agentes patogênicos, atuando não apenas individualmente mas também atuando adicionalmente e de forma sinérgica. As composições aqui divulgadas não são corrosivas, não são tóxicas, e podem ser incorporadas em uma ampla variedade de veículos. Desta forma, as composições podem ser embaladas em forma de aerossol em recipientes de aerossol de tipo convencional, dispositivos geradores de neblina, ou em forma líquida em bombas de gatilho, garrafas de aspersão e garrafas de apertar (líquido/gel). As composições podem ser impregnadas em toalhinhas (de natureza tecida ou não tecida) e podem ser embaladas individualmente ou em lotes para fornecimento individual para atendimento de uma ampla variedade de objetivos operacionais.

A presente invenção proporciona uma formulação aquosa para aperfeiçoamento das propriedades de descontaminação de alcanóis inferiores  $C_1 - C_6$  para desinfecção de tecidos vivos e objetos inanimados relativamente a contaminantes prejudiciais. A composição de acordo com a presente invenção inclui alcanóis  $C_1 - C_6$  inferiores incluindo, sem limitações, metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, e misturas dos mesmos que se encontram presentes em uma quantidade desde cerca de 3 até 95%. O etanol ou o isopropanol são mais preferenciais.

A composição também inclui derivados de ácidos graxos incluindo, sem limitações, sais de metais alcalinos e alcalinos terrosos (Na, K, Li, Mg, etc.) de ácidos graxos possuindo 4 até 22 átomos de carbono, e misturas dos 5 mesmos. Outros derivados de ácidos graxos úteis incluem derivados de éster tais como butilésteres, etilésteres, metilésteres, acilgraxo-Coenzima A, ésteres de sacarose, e monoglicerídeos de um ácido graxo desejável. Os monoglicerídeos úteis para os propósitos da presente 10 invenção são frações de glicerol acopladas por ligações éster ou ligações éter a ácidos graxos possuindo desde 4 até 22 átomos de carbono ( $C_4$  -  $C_{22}$ ) ou acopladas alternativamente a álcoois graxos saturados ou insaturados possuindo desde 8 até 16 átomos de carbono ( $C_8$  -  $C_{16}$ ), e 15 misturas dos mesmos. Geralmente, a inclusão de derivados de ácidos graxos em quantidades desde 0,1% por peso até cerca de 25% por peso, particularmente desde 5 até 10% por peso, foi observada como sendo útil. Os derivados de ácido láurico são mais preferenciais. Os agentes de alcalinização 20 incluem, sem limitações, hidróxido de amônio, hidróxido de alumínio, hidróxidos de metais alcalinos (Na, K, Li), hidróxidos de metais alcalinos terrosos (Ca, Mg), carbonatos de hidrogênio ou metal alcalino, por exemplo, carbonato de sódio ou hidrogênio carbonato (bicarbonato) de 25 sódio, ou misturas dos mesmos. Geralmente, a quantidade dos agentes de alcalinização pode variar de 0,01% por peso até 10% por peso, e varia mais preferencialmente dentro da

faixa de 3 até 6% por peso, por exemplo, 5% por peso. E opcionalmente, um ou mais constituintes selecionados do grupo que consiste em agentes espessantes, emolientes, umectantes, inibidores de corrosão, agentes de propulsão, 5 perfumes, agentes flavorizantes, des-espumantes, anti-oxidantes, e corantes.

Os contaminantes prejudiciais sobre os quais a presente invenção atua incluem agentes de guerra química (VX, mostarda, sarin, soman, e tabun), toxinas, insetos 10 (por exemplo, vetores de doenças), e agentes infecciosos patogênicos tais como bactérias, fungos, vírus, esporos fúngicos e bacterianos, e prions com conformação alterada (CJD, CWD, BSE, Scrapie). Os objetos inanimados sobre os quais a invenção atua incluem, sem limitações, 15 instrumentos, equipamentos médicos, instalações militares e civis, mobiliário, papéis e materiais impressos, etc., aço inoxidável, plástico, fibra de vidro, cerâmica, mármore, esmalte e porcelana.

Em algumas configurações, o solvente consiste em 20 água. Em configurações adicionais, o alanol consiste em etanol. Em algumas configurações, o solvente consiste em etanol. Em configurações adicionais, o contaminante é um agente de guerra química, um agente de guerra biológica, uma proteína (por exemplo, prions infecciosos), uma toxina 25 (por exemplo, toxinas Stachybotrys, botulina), um inseto (por exemplo, vetores de doenças), um agente infeccioso patogênico (tal como bactérias, fungos, vírus), um esporo

fúngico (por exemplo, *Stachybotrys chartarum*) ou um esporo bacteriano (por exemplo, um esporo de *Bacillus atropheus*). Em configurações adicionais, o contaminante encontra-se sobre uma superfície, na atmosfera, no solo, em instrumentos médicos e cirúrgicos, em produtos alimentícios, em rações para animais, em papéis e materiais impressos, em equipamentos militares ou em tecidos vivos incluindo sem limitações, na pele, nas mãos, nos músculos, em tecidos biológicos de origem animal e vegetal.

Os exemplos a seguir são destinados a promover um entendimento adicional da presente invenção. As composições da invenção são ilustradas por exemplos de formulações específicas conforme as descrições dadas abaixo, sem entretanto serem limitados às mesmas. Deverá ser entendido que estes exemplos são providos meramente a título de ilustração e que formulações úteis adicionais abrangidas no escopo da presente invenção poderão ser prontamente produzidas por uma pessoa versada na técnica sem afastamento do escopo da invenção.

## EXEMPLO 1

Tabela 1:

Componente	Composição (FB)	Quantidade
Alcanol (ml):	Etanol	62
Ácido graxo (g):	Ácido láurico	10
Agente de alcalinização (g):	Hidróxido de potássio	3,5
Água (ml):	Desionizada	26
pH:		14,42

A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

O sumário de resultados e dados que se encontra a seguir é baseado em testes realizados em esporos de fumagina utilizando a composição (FB) da Tabela 1. O fungo *Stachybotrys chartarum*, vulgarmente designado como "bolor negro doméstico" tornou-se um problema importante em residências e edifícios de escritórios, custando aos imóveis e às indústrias do ramo de seguros bilhões de dólares por ano. O fungo cresce preferencialmente em materiais que contêm celulose tais como papel de papelaria, placa de fibra de madeira, madeira e gesso acartonado, em ambientes quentes e úmidos tais como residências anteriormente sujeitos a danos por água de condensação, vazamentos e inundações. Existem aproximadamente 120 milhões de unidades habitacionais e 5 milhões de edifícios comerciais nos Estados Unidos da América que são potencialmente suscetíveis a estes danos causados por água. Os indivíduos que entraram em contato com grãos ou palhas contaminadas com *Stachybotrys* e determinados como tendo contraído infecções, manifestam sintomas tais como dermatite, dor e inflamação das membranas mucosas da boca e da garganta, uma sensação de queimadura nas passagens nasais, aperto no peito, tosse, rinite com presença de sangue, febre, dor de cabeça, irritação cutânea e fadiga. Os indivíduos que consumiram grãos contaminados relataram uma sensação de queimadura na boca, náusea, vômitos, diarréia e dores abdominais. O *Stachybotrys* esteve implicado tanto na "síndrome do edifício doente", quanto em

hemorragias pulmonares em crianças muito jovens. Este fungo produz um certo número de micotoxinas de tricoteceno, entre as quais se encontram as satratoxinas (G, F e H), roridina, tricodermol e tricoverrol. Muito embora o modo de ação da 5 satratoxina não seja bem entendido, acredita-se que seja um imunossupressor mesmo em concentrações muito baixas, bem como um potente inibidor de síntese de proteína. A solução envolve tipicamente demolição e remoção de áreas contaminadas com *Stachybotrys*. A destruição deste fungo e 10 de suas toxinas com a composição de acordo com a presente invenção irá reduzir substancialmente os custos envolvidos na solução desse tipo de problema.

*Preparação de Esporos Fúngicos:* Foram utilizados neste experimento esporos de *Stachybotrys chartarum*, que 15 foram determinados como sendo altamente tóxicos, e extratos de satratoxina com concentração conhecida de satratoxina (ng/g). Uma concentração conhecida de esporos de *Stachybotrys* foi sub-cultivada em placas de ágar de dextrose de batata ("Potato Dextrose Agar" - PDA) ou placas 20 de ágar de extrato de malte ("Malt Extract Agar" - MEA). As placas foram incubadas na escuridão à temperatura ambiente (26° C) durante cinco até sete (5 - 7) dias, até ser obtido crescimento confluente. Os esporos foram colhidos com solução salina de tampão de fosfato (Phosphate Buffer 25 Saline" - PBS), pH 7,0, com concentrações finais de  $10^5$  e  $10^7$  esporos/ml de solução salina com tampão de fosfato (PBS).

*Determinação da Eficácia do Tratamento: Esporos.*

Nove mililitros (ml) da composição (FB) foram inoculados com um mililitro (1 ml) de concentração de esporos. A concentração inicial de esporos foi de 6,65 log de unidades formadoras de colônia por dez mililitros (CFU/10 ml) de solução. A amostragem foi realizada em tubos de ensaio esterilizados. Os tubos foram agitados vigorosamente, três vezes por minutos durante os primeiros dez minutos e subseqüentemente uma vez a cada cinco minutos durante um total de dez (10), trinta (30), e sessenta (60) minutos. Os tubos foram então esvaziados e enxaguados três vezes com água desionizada (5 ml) durante cinco minutos (5 min) cada um, da mesma maneira, na realização do tratamento. As soluções de cada um dos tratamentos foram combinadas. Foram incluídos controles positivo (esporos inoculados com tratamentos experimentais) e negativo (tratamentos experimentais sem esporos). Foi feita uma cultura de placa de cem microlitros ( $\mu$ l) da solução combinada de cada tratamento em placas de PDA à temperatura ambiente, na escuridão, durante sete dias. Este procedimento foi repetido três vezes. Após uma semana foi realizada uma contagem dos esporos.

Foram utilizadas três concentrações da composição (FB) (30%, 60% e 100%). As diluições foram realizadas com água destilada. Foram igualmente utilizadas soluções aquosas de alvejante de cloro com 3,75%, 7,5% e 12,5% de hipoclorito de sódio. Os tratamentos foram submetidos a

amostragem aos 0, 1, 5, 30 e 60 minutos. Foi observada uma inibição completa de crescimento de esporos para 30% de FB após cinco (5) minutos. Não foi observado crescimento com 60 e 100% de FB após um (1) minuto conforme se encontra ilustrado na Figura 2. As Figuras 1A-E ilustram o efeito de diferentes concentrações de composição FB na eliminação de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*). A Figura 1A ilustra o efeito de 100% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1B ilustra o efeito de 60% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1C ilustra o efeito de 50% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1D ilustra o efeito de 40% de FB na redução de esporos de fumagina. A Figura 1E ilustra o efeito de 30% de FB na redução de esporos de fumagina.

No caso do alvejante de cloro, foi observada uma inibição completa de crescimento de esporos em todas as três concentrações de detergente utilizadas (3,75%, 7,5% e 12,5% de hipoclorito de sódio) após um (1) minuto conforme se encontra ilustrado na Figura 4. As Figuras 3A-C ilustram o efeito de diferentes concentrações do alvejante doméstico Clorox® na eliminação de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*). A Figura 3A ilustra o efeito de 12,5% de NaOCl na eliminação de esporos de fumagina. A Figura 3B ilustra o efeito de 7,5% de NaOCl na eliminação de esporos de fumagina. A Figura 3C ilustra o efeito de 3,75% de NaOCl na eliminação de esporos de fumagina.

Os resultados destes testes indicam claramente que

a composição de acordo com a presente invenção é muito eficaz na descontaminação de esporos de fumagina. É igualmente claro que o alvejante é um descontaminante muito eficaz. A principal motivação para a busca de um substituto

5 para o alvejante tem como causa sua elevada ação corrosiva e não sua incapacidade de matar germes. A composição (FB) foi então adicionalmente otimizada, e foram utilizadas soluções de 30%, 40%, 50% e 60% para teste de concentração ideal capaz de prevenir o crescimento de esporos em um (1)

10 minuto. Foram colhidas amostras após um e cinco minutos. Foi observado o crescimento após cinco (5) minutos com a concentração de 30% conforme anteriormente observado. A concentração de 40% inibiu o crescimento após cinco (5) minutos e ambas as concentrações de 50% e 60% inibiram o

15 crescimento após um (1) minuto conforme pode ser observado na Tabela 2. Neste ponto, uma diluição de 50% foi selecionada como constituindo a concentração ideal da composição (FB) para inibição de esporos no espaço de um minuto, e esta concentração foi utilizada em estudos

20 adicionais em materiais de construção.

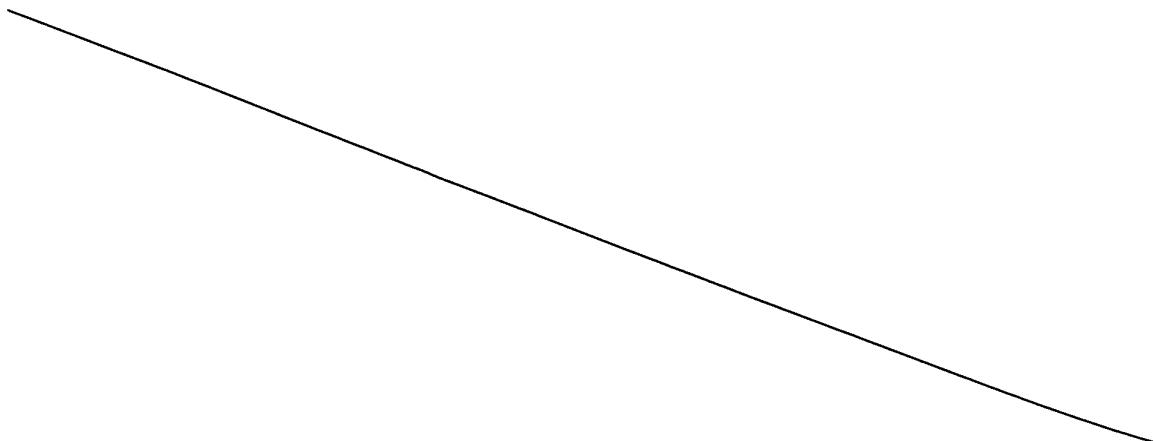


Tabela 2: Efeito de diferentes concentrações de composição (FB) na redução do número de esporos de fumagina ("black mold") (*Stachybotrys chartarum*) com o tempo (log CFU/10 ml).

Tratamento	Contagens de	Contagens de	Contagens de
	esporos 0 min	esporos 1 min	esporos 5 min
Controle	5,8	5,8	5,8
30% FB	5,8	4,75	3,7
40% FB	5,8	3,3	0
50% FB	5,8	0	0
60% FB	5,8	0	0

5            *Determinação de Eficácia de Tratamento: Materiais de Construção.* A composição provou igualmente ser eficaz na descontaminação de uma variedade de superfícies de substrato. Três diferentes materiais foram obtidos da empresa Home Depot® Home Improvement Center (Homer TLC, 10 Inc., Claymont, Delaware, Estados Unidos da América): 1) carpete (Journey's End Loop Harbor Lig); 2) telha; 3) papel de impressão para uso geral (branco); e 4) madeira. As amostras foram cortadas em quadrados de duas polegadas, foram embebidas durante a noite em dez mililitros (10 ml) 15 de água desionizada, e foram esterilizadas com autoclave durante uma hora a 121° C. Os materiais esterilizados foram deixados esfriar e foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo de materiais esterilizados foi inoculado com 100 µl de suspensão de esporos ( $10^7$  esporos/10 ml de

solução) e foi deixado secar ao ar sob a tampa durante 30 minutos, sendo subsequentemente aspergido com cerca de 1 ml de água (controle), composição (50% FB) e alvejante doméstico Clorox® (Clorox Company, Oakland, Califórnia, Estados Unidos da América), respectivamente, e foi incubado à temperatura ambiente na escuridão durante trinta (30) dias. Após 30 dias, foi observado crescimento em todos os tratamentos de controle (materiais tratados com água). Não foi observado crescimento nos materiais tratados seja com a composição (50% FB) seja com o alvejante doméstico Clorox® (Figura 5, Figura 6, Figura 7 e Figuras 11A-F). O segundo grupo de materiais esterilizados foi inoculado com 100 µl da mesma concentração de suspensão de esporos ( $10^7$  esporos/10 ml de solução) e foi incubado à temperatura ambiente na escuridão durante trinta dias. Foi observado crescimento em todas as amostras, e o crescimento nas amostras ocorreu na seguinte ordem: telha > carpete > papel (Figura 8, Figura 9 e Figura 10). Estas amostras foram então imersas em trinta mililitros (30 ml) de água (controle), composição (50% FB) e alvejante doméstico Clorox®, respectivamente, durante cinco minutos (5 min), e foram deixadas secar ao ar sob a tampa durante 1,5 horas. A satratoxina foi extraída com dez mililitros (10 ml) de metanol. Os extratos, de cerca de quatro mililitros (4 ml) foram deixados secar ao ar durante a noite sob a tampa até um volume final de cerca de 1,5 ml. Uma quantidade mínima (100 µl) de cada amostra foi re-suspensa em 900 µl de água

desionizada, e foram utilizados 8  $\mu$ l de cada tratamento/suspensão para o Ensaio de Toxicidade de Levedura ("Yeast Toxicity Assay").

*Ensaio de Toxicidade de Levedura ("Yeast Toxicity Assay"):* Foram realizadas culturas de *Kluyveromyces marxianus* (No. 8554; ATCC, Manassas, Virgínia, Estados Unidos da América) a uma temperatura de 37° C e as culturas foram armazenadas a 4° C em extrato de levedura em ágar (1% (peso/volume) de caldo de levedura-peptona-glicose ("Yeast-Peptone-Glucose" - YPG); 1% (peso/volume) de peptona bacteriológica; 2% (peso/volume) de glicose; e 2% (peso/volume) de ágar). Para o teste, uma única colônia de uma placa de ágar foi adicionada a 5 ml de mídia líquida YPG-50 (1% (peso/volume) de extrato de levedura; 1% (peso/volume) de peptona bacteriológica; e 50 mM de glicose) em um tubo de cultura. O tubo foi incubado em uma incubadora rotativa durante cerca de dezesseis (16) horas a 37° C para obtenção de uma cultura com uma densidade final de  $1 \times 10^8$  células/ml em YPG-50. O YPG-50 foi suplementado com uma solução mãe de sulfato de polimixina B (PMBS) (ICN Biomedicals, Aurora, Ohio, Estados Unidos da América), para obtenção de uma concentração final de quinze miligramas por mililitro (15 mg/ml) para o procedimento de bio-ensaio. Os testes foram realizados em triplicado. Para o procedimento de bio-ensaio, 136 microlitros ( $\mu$ l) de mídia YPG-50 suplementada com PMBS foram adicionados aos receptáculos de uma placa de micro-titulação de poliestireno de 96

receptáculos. Oito microlitros (8  $\mu$ l) da amostra de teste ou do controle foram adicionados a cada receptáculo, seguidos de dezesseis microlitros (16  $\mu$ l) de material de inoculação de levedura, para obtenção de uma densidade de 5 células inicial de aproximadamente  $1 \times 10^8$  células/ml. Os receptáculos vagos (controle negativo) continham 152  $\mu$ l de mídia e 8  $\mu$ l de água. Os receptáculos de controle (controle positivo) continham 144  $\mu$ l de mídia e 16  $\mu$ l de material de inoculação de levedura. As placas foram vedadas e incubadas 10 em um agitador de placas a 37° C durante oito horas (quando as células alcançaram a fase estacionária). A densidade de células foi medida a cada duas horas mediante medição da absorvência em um leitor de placas de micro-titulação em um comprimento de onda de 570 nm. A absorvência foi 15 correlacionada com a curva de crescimento de 8 horas de *K. marxianus* para determinação da densidade de células. Estas culturas são sensíveis a micotoxinas tipo tricotecenos, e não crescem na presença de quantidades muito reduzidas (100-200 ng/ml). Uma elevada densidade ótica ("Optical 20 Density" - OD) será resultante de um aumento de turbidez, que significará um crescimento do organismo, e uma OD baixa será devida a pouco ou nenhum crescimento do organismo. O valor de OD de todos os tratamentos (mídia + (composição 25 (50% FB) ou tratamento com alvejante doméstico Clorox®) + material de inoculação de levedura) foi superior ao de seus controles positivos (mídia + tratamento de água + material de inoculação de levedura) em todos os pontos no tempo

submetidos a amostragem (0, 2, 4, 6,5 e 8 horas). Isto demonstrou que a composição (50% FB) era capaz de degradar as toxinas nos materiais de construção em um prazo de cinco minutos (5 min), e portanto a extração com metanol dos materiais desintoxicados não apresentou quaisquer indícios de satratoxina, em comparação com as amostras tratadas com água (Tabelas 3, 4, 5).

Tabela 3: Densidade ótica (570 nm) de amostras de carpete tratadas com composição (50% FB) e alvejante doméstico Clorox® (CB) após crescimento de fungos.

Tempo (h)	Controle Positivo	Controle	50% FB	CB
0	0,335	0,395	0,952	0,35
2	0,3	0,292	0,912	0,325
4	0,319	0,293	0,808	0,37
6,5	0,318	0,301	0,714	0,436
8	0,318	0,301	0,714	0,436

Tabela 4: Densidade ótica (570 nm) de amostras de papel para uso geral tratadas com composição (50% FB) e alvejante doméstico Clorox® (CB) após crescimento de fungos.

Tempo (h)	Controle Positivo	Controle	50% FB	CB
0	0,335	0,399	0,645	0,490
2	0,33	0,381	0,60	0,474
4	0,319	0,44	0,614	0,470
6,5	0,318	0,497	1,008	0,482
8	0,318	0,497	1,008	0,482

Tabela 5: Densidade ótica (570 nm) de amostras de telha tratadas com composição (50% FB) e alvejante doméstico

Clorox® (CB) após crescimento de fungos.

Tempo (h)	Controle Positivo	Controle	50% FB	CB
0	0,335	0,318	0,811	0,472
2	0,33	0,296	0,895	0,456
4	0,319	0,350	0,798	0,520
6,5	0,318	0,424	0,699	0,596
8	0,318	0,424	0,699	0,596

#### EXEMPLO 2

Foi investigado o efeito anti-microbiano de esporos de *Stachybotrys chartarum* mediante utilização de composições com sabões de ácidos graxos e sabões de ácidos graxos previamente preparados *in situ* mediante neutralização dos ácidos graxos livres com uma quantidade excessiva de agente de alcalinização.

Tabela 6:

Componente (I)	Composição (I)	Quantidade (I)
Alcanol (ml):	Etanol	62
Ácido graxo livre (mol):	Ácido láurico	0,05
Agente de alcalinização (mol):	Hidróxido de potássio	0,06
Água (ml):	Desionizado	26
pH:		14,42

10 A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

A eliminação de esporos de *Stachybotrys chartarum* mediante utilização da composição da Tabela 6 foi total.

Tabela 7:

Componente (II)	Composição (II)	Quantidade (II)
Alcanol (ml):	Etanol	62
Sabões de ácidos graxos (mol):	Laurato de potássio	0,05
Agente de alcalinização (mol):	Hidróxido de potássio	0,01
Água (ml):	Desionizado	26
pH:		14,42

A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

A eliminação de esporos de *Stachybotrys chartarum* mediante utilização da composição da Tabela 7 foi total.

Desta forma, não houve diferença no efeito antimicrobiano entre as composições que utilizaram sabões de ácidos graxos e sabões de ácidos graxos previamente preparados, geradas *in situ* mediante adição de uma quantidade excessiva de agente de alcalinização para neutralização dos ácidos graxos livres. Em experimentos subseqüentes, os sabões de ácidos graxos foram gerados *in situ*.

### EXEMPLO 3

Os esporos bacterianos são altamente resistentes a agentes químicos e físicos. Eles são reconhecidamente os microorganismos mais difíceis de eliminar. As bactérias formadoras de esporos de maior importância são membros dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*. As espécies *Bacillus anthracis* e *Clostridium difficile* apresentam uma distribuição praticamente global a nível geográfico. Foram descritas ocorrências significativas de *Clostridium*

*difficile* em hospitais. Os esporos deste agente patogênico são capazes de sobreviver por longos períodos em ambientes hospitalares, por exemplo, em pisos e próximo de toaletes. Os esporos de *Bacillus*, que são abundantes no solo, causam infecções em animais de criação e em animais selvagens, e em seres humanos que têm contato com animais infectados ou 5 ingerem carne contaminada. Os esporos de *Bacillus anthracis* foram reconhecidos como constituindo um agente extremamente perigoso de guerra biológica. É extremamente importante encontrar uma medida de controle eficiente para neutralização destes agentes infecciosos. O efeito esterilizador das composições de acordo com a presente invenção foi examinado em esporos de *Bacillus atropheus* aderidos à superfície de discos de aço inoxidável. O 10 *Bacillus atropheus*, um substituto bem conhecido do *Bacillus anthracis*, foi utilizado em todos os experimentos. Foram realizadas amostras em triplicado (três discos separados) para todos os tratamentos e pontos no tempo.

*Procedimento para Ensaio Quantitativo de População  
20 de Esporos Viável em Discos de Aço Inoxidável.*

*Materiais:* Discos de aço inoxidável inoculados com 2 X 10<sup>6</sup> esporos de *Bacillus atropheus* por disco (SGM Biotech Inc.); Contas de vidro estéreis de 6 mm; 0,1% Tween 80 em água; e Placas de ágar tríptico de soja.

25 *Procedimento experimental:* Dispõe-se um único disco inoculado em um frasco de cintilação de fundo plano esterilizado. Adiciona-se 10 ml de tratamento (água,

composição da presente invenção, etc.) e realiza-se incubação à temperatura ambiente durante um período de tempo especificado (15 seg, 5 min, 30 min, etc.). Após o tratamento, o disco é removido com fórceps esterilizados em 5 chama e submetido a secagem de extremidade mediante contato de uma borda do disco com papel de filtro esterilizado para remoção de quantidades excessivas de tratamento. O disco tratado é disposto em um tubo de ensaio de fundo plano (21,5 X 95 mm) preenchido com quatro contas de vidro de 6 10 mm e 5,0 ml de 0,1% Tween 80. Cada tubo é submetido a sonicação durante 5 minutos e é subsequentemente submetido a agitação de vórtice durante 5 minutos (na velocidade 5 em um equipamento Vortex Genie 2). São adicionados 5,0 ml de água purificada esterilizada e é novamente realizada 15 agitação de vórtice durante cinco minutos. É realizado um choque de calor a 82° C durante dez minutos. Os tubos submetidos a choque térmico são agitados por vórtice durante dez segundos. São realizadas diluições decuplicadas realizadas em série mediante transferência de 0,1 ml para 20 tubos de diluição contendo 0,9 ml de água esterilizada. Cada tubo é submetido a agitação de vórtice durante dez segundos. É realizada cultura de 1,0 ml do tubo inicial submetido a choque térmico, bem como de 0,1 ml do tubo inicial submetido a choque térmico e de cada diluição, em 25 triplicado, em placas de ágar triptico de soja. As placas são incubadas a 32° C. É realizada contagem das colônias recuperadas após 24, 48, e 72 horas de incubação.

Finalmente é calculado o percentual de sobrevivência e o percentual de eliminação em comparação com discos de controle incubados somente em água.

*Procedimento Para Ensaio Qualitativo de*  
5 *Sobrevivência de Esporos.*

*Materiais:* Discos de aço inoxidável inoculados com  $2 \times 10^6$  esporos de *Bacillus atropheus* por disco (SGM Biotech Inc.); e Caldo triptico de soja.

*Procedimento experimental:* Dispõe-se um único disco  
10 inoculado em um frasco de cintilação de fundo plano esterilizado. Adiciona-se 10 ml de tratamento (água, composição da presente invenção, etc.) e realiza-se incubação à temperatura ambiente durante um período de tempo especificado (15 seg, 5 min, 30 min, etc.). Após o  
15 tratamento, o disco é removido com fórceps esterilizados em chama e submetido a secagem de extremidade mediante contato de uma borda do disco com papel de filtro esterilizado para remoção de quantidades excessivas de tratamento. O disco tratado é disposto em um tubo de ensaio de tampa de rosca  
20 esterilizado contendo dez mililitros (10 ml) de caldo triptico de soja. Os tubos são incubados a 32° C. A cada dia durante quatorze dias ou até todos os tubos terem alcançado a turbidez máxima, é realizada observação dos tubos quanto a crescimento mediante comparação de turbidez  
25 com os padrões de turbidez MacFarland. É atribuída uma classificação de 0 até 7 com 0 = sem crescimento visível e 7 = crescimento denso. Quando um tubo tiver alcançado uma

classificação de 7, o mesmo é registrado como tendo uma classificação de 7 durante o resto do experimento.

*Análise qualitativa de eliminação de esporos pela composição de acordo com a presente invenção:* Onze 5 composições foram testadas qualitativamente quanto a sua capacidade de eliminação de esporos de *Bacillus atropheus*, conforme se encontra ilustrado na Tabela 8. Três discos de aço inoxidável inoculados com  $2 \times 10^6$  esporos de *B. atropheus* foram individualmente expostos a cada formulação 10 durante trinta (30) minutos à temperatura ambiente. Os discos expostos foram removidos do tratamento, submetidos a secagem marginal para remoção de quantidades excessivas de tratamento, dispostos em 10 ml de meio de cultura de caldo tríptico de soja, e incubados a 32° C. As culturas foram 15 observadas quanto a crescimento diariamente durante quatorze dias. Os resultados destes experimentos, ilustrados na Tabela 9, foram registrados como a soma das pontuações atribuídas a três culturas separadas para cada tratamento; pontuação máxima = 21. Uma pontuação de 6 ou 20 superior indica um crescimento significativo.

---

Tabela 8: Combinação de composições de diferentes constituintes

Composições	Ácido láurico (g)	KOH (g)	EDTA (g)	Etanol (ml)	pH
1	10	3,5	0	62	14,42
2	10	4,24	1	62	14,4
3	10	4,25	2	62	10,2
4	10	5,01	2	62	14,21
5	10	6,5	4	62	11,04
6	10	5,5	0	62	14,94
7	10	8,6	0	62	15,27
8	17,5	7,6	0	56,3	14,87
9	0	0	0	62	7
10	0	0,56	0	62	14,02
11	10	0	0	62	4,61

A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

Tabela 9: Resultados de atividade esporicida de diferentes 5 composições

Composições	Pontuação máxima	Dias necessários para alcançar a pontuação máxima	Dias necessários para alcançar pontuação significativa
1	21	4	2
2	21	3	2
3	21	2	1
4	21	4	3
5	21	13	1
6	3	3	ND
7	3	4	ND
8	3	3	ND
9	21	2	1
10	21	3	3
11	21	3	2
Água	21	1	1

Os resultados sugerem que as composições mais eficazes são as composições 6, 7, e 8. O agente quelante EDTA tem um efeito muito prejudicial no efeito esporicida das composições. Os resultados destes testes apresentam 5 claramente uma sinergia entre o laurato de potássio, o etanol, e o KOH, que é responsável pelo drástico efeito esporicida das composições. Pode ser observado destes resultados que a utilização dos três ingredientes em combinação (isto é, etanol, sabões de ácidos graxos, e 10 agentes alcalinizante) produziram um efeito de esterilização sinérgico muito mais intenso que aquele que poderia ser previsto da utilização individual ou conjunta de etanol e agentes de alcalinização ou da utilização conjunta de etanol e ácido láurico livre, podendo reduzir 15 substancialmente as concentrações necessárias dos ingredientes individuais. Os compostos anti-microbianos da composição operam em sinergia reduzindo tanto a concentração de compostos individuais que constitui requisito para inativação de agentes patogênicos quanto, de 20 forma igualmente importante, reduzindo substancialmente o tempo necessário para inativação dos agentes patogênicos. Quanto mais rapidamente os agentes patogênicos forem inativados menor será a probabilidade de os mesmos estabelecerem uma infecção. Surpreendentemente, os 25 presentes requerentes descobriram que o efeito antimicrobiano total provido pela composição parece ser muito superior àquele que pode ser elucidado mediante um exame do

efeito anti-microbiano de cada composto considerado individualmente.

*Análise quantitativa de eliminação de esporos pelas composições 1, 6, 8 e 11 de acordo com a invenção:* Quatro 5 composições foram testadas quanto a sua capacidade para eliminação do esporo de *Bacillus atropheus*, com utilização de um teste quantitativo para medição do número de esporos que sobrevivem a um tratamento. Três discos de aço inoxidável inoculados com  $2 \times 10^6$  esporos de *B. atropheus* 10 foram expostos individualmente a cada composição alternativamente durante 15 segundos ou 30 minutos, à temperatura ambiente. Os discos expostos foram removidos do tratamento e processados para remoção de esporos dos discos. As suspensões de esporos removidas dos discos foram 15 diluídas e as diluições foram submetidas a cultura em placa, em triplicado, em placas de ágar tríptico de soja. As placas foram incubadas durante 72 horas a 32° e foram realizadas contagens de colônias após 24, 48, e 72 horas. Os resultados destes experimentos, apresentados como a 20 média de três amostras repetidas, encontram-se ilustrados na Tabela 10.

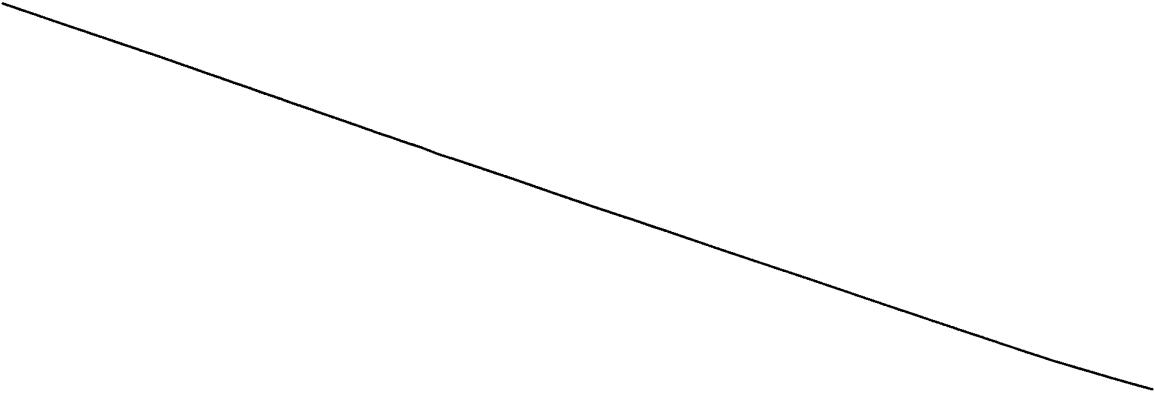


Tabela 10: Percentual de redução de esporos de *Bacillus atropheus* mediante utilização de composições selecionadas

Composição	Esporos viáveis	% de Eliminação pós-tratamento
1	$6,9 \times 10^2$	99,96%
6	Sem crescimento	> 99,99995%
8	Sem crescimento	> 99,99995%
11	$5,2 \times 10^5$	74%
Controle de água	$2 \times 10^6$	0%

Estes resultados demonstram que as fórmulas 6 e 8 produzem como resultado uma eliminação total ou quase total  
5 de  $2 \times 10^6$  esporos em 30 minutos à temperatura ambiente.

#### EXEMPLO 4

O controle de vetores de insetos (por exemplo, mosquitos, etc.) é uma parte integral do controle da transmissão de doenças infecciosas (vírus do Vale do Nilo 10 ocidental (*West Nile virus*), malária, encefalite, etc.). As composições de acordo com a presente invenção são eficazes para eliminação dos agentes patogênicos que causam estas doenças infecciosas bem como dos vetores que transmitem estes agentes patogênicos, proporcionando portanto uma 15 redução de risco de ocorrência de doenças infecciosas. A toxicidade dos inseticidas aumentou o interesse em uma implementação alternativa e integrada de métodos de controle de vetores que incluem controle biológico. A composição de acordo com a presente invenção não é tóxica e 20 apresenta segurança para seres humanos e para o meio ambiente e não requer enxaguamento para superfícies com

contato direto com alimentos, devido ao fato de ser feita com ingredientes GRAS.

Tabela 11:

Componente	Composição (FB)	Quantidade
Alcanol (ml):	Etanol	62
Ácido graxo (g):	Ácido láurico	10
Agente de alcalinização (g):	Hidróxido de potássio	5,5
	Bicarbonato de potássio	1
pH:		14,94

A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

5 A atividade inseticida é determinada mediante utilização de larvas de terceiro instar do mosquito *Culex pipiens quinquefasciatus*. Dez larvas foram dispostas em um copo de papel de seis onças contendo 100 ml da composição de acordo com a presente invenção. As larvas tratadas foram  
10 armazenadas a 70° F e 48 horas depois foram registradas as taxas de mortalidade.

#### EXEMPLO 5

Os agentes de guerra química com probabilidade de constituírem ameaças utilizadas em terrorismo incluem o  
15 sarin (O-isopropil metilfosfonofluoridato), o soman (O-pinacolil metilfosfonofluoridato), o tabun (O-etil N,N-dimetil fosforamidocianidato) e o VX (O-etil S-2-diisopropilaminoetil metil fosfonotiolato). As estruturas químicas destes agentes ilustram a similaridade no fato de  
20 serem compostos contendo fósforo e poderem ser quimicamente alterados por ataque nucleofílico, utilizando as

composições da presente invenção, sendo dessa forma neutralizados como agentes de guerra química.

Tabela 12:

Componente	Composição (FB)	Quantidade
Alcanol (ml):	Etanol	72
Ácido graxo (g):	Ácido láurico	10
Agente de alcalinização (g):	Hidróxido de potássio	5,5
	Hidróxido de alumínio	1
pH:		14,94

A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

5 Os agentes de alcalinização são adicionados à composição em uma quantidade até 1-3 vezes superior àquela suficiente para neutralizar os ácidos graxos livres presentes. A quantidade excessiva é adicionada para além da neutralização do ácido láurico para provisão de uma  
10 quantidade suficiente de nucleófilos para hidrólise dos agentes de guerra química e para desnaturar os príons infecciosos. Os nucleófilos na presente composição inventiva compreendem hidróxidos e alcóxidos. Os agentes de alcalinização reagem com etanol produzindo etóxido. O  
15 etóxido é mais alcalino que os hidróxidos e é mais forte.

O seguinte procedimento de teste é utilizado para medição da taxa de reação: Todos os testes são realizados com agentes de classe CASARM ("Chemical Agent Standard Analytical Reference Material" - Material de Referência Analítica de Padrão de Agente Químico). Todos os testes são realizados à temperatura ambiente em um vaso de reação com

bainha equipado com um misturador. A composição de acordo com a presente invenção (100 ml) é disposta no vaso de reação e é submetida a agitação. No inicio do teste, dois mililitros (2 ml) do agente de guerra química são colocados 5 no vaso de reação. São removidas amostras do vaso de mistura em diferentes pontos no tempo. As amostras são esfriadas com solvente e são analisadas por cromatografia de espectrometria de massa gasosa (GC MS) quanto a agente não reagido. Todas as amostras de teste são analisadas em 10 triplicado.

#### EXEMPLO 6

Lâminas de vidro contaminadas artificialmente com seções de tecido são obtidas na autópsia de um paciente humano com uma forma esporádica da doença de Creutzfeldt-Jakob (sem mutação no gene de proteína de príon de linha de germe (PRNP), metionina-homozigótica no códon 129 de PRNP) 15 são expostas a tratamentos de 1 min e 10 minutos com as seguintes composições ilustradas na Tabela 13, à temperatura ambiente.

20 Tabela 13: Combinação de composições de diferentes constituintes

Composições	Ácido láurico (g)	KOH (g)	Etanol (ml)	pH
1	10	3,5	62	14,42
6	10	5,5	62	14,94
8	17,5	7,6	56,3	14,87

A mistura foi feita até um volume de 100 ml com água desionizada.

Após a exposição, o tecido é homogeneizado em

tampão de lise conforme descrito por Castelleni e outros (1996). O tecido de controle de CJD e o tecido exposto às composições relatadas na Tabela 13 são subseqüentemente tratados com tampão de amostra 2X e fervidos durante dez 5 minutos. Uma amostra de controle de CJD é igualmente submetida a uma proteólise limitada (100 microgramas/ml de proteinase K) durante uma hora a 37° C, um inibidor de protease (Pefabloc, Roche Applied Science, Indianápolis, Indiana, Estados Unidos da América) interrompe a reação e 10 um volume igual de tampão de amostra 2X é adicionado com subseqüente fervura durante dez minutos. Todas as amostras são então carregadas em gel de minigel de 12% poliacrilamida e são submetidas a eletroforese a 150 V, anteriormente à transferência das mesmas para uma membrana de transferência 15 Immobilon® (Millipore Corporation, Billerica, Massachusetts, Estados Unidos da América) durante duas horas a 4° C. As amostras sobre a membrana são reagidas com anticorpo monoclonal 3F4, que reconhece os resíduos 109-112 de proteína de prion humano. A imuno-reatividade é 20 visualizada por quimioluminescência e detectada por autoradiografia convencional.

Muito embora a presente invenção seja aqui descrita com referência a configurações ilustradas, deverá ser entendido que a invenção não se encontra limitada às 25 mesmas. Aqueles que são normalmente versados na técnica e têm acesso aos ensinamentos aqui contidos poderão identificar configurações e modificações adicionais dentro

do escopo das configurações ilustradas. Desta forma, a presente invenção é limitada somente pelas reivindicações que se encontram aqui em anexo.

## - REIVINDICAÇÕES -

1. MÉTODO PARA HIGIENIZAÇÃO DE UM MATERIAL, caracterizado por compreender:

- (a) provisão de uma composição aquosa  
5 compreendendo uma mistura de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono e um derivado de ácido graxo consistindo em um sal ou éster com um pH de cerca de 14 ou superior, em que o derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição;
- 10 (b) aplicação da composição ao material em uma quantidade eficaz para higienizar o material; e
- (c) remoção opcional de uma composição resultante da etapa (b).

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso.

3. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o ácido graxo consistir em um sal de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li), cálcio (Ca) ou magnésio (Mg).

4. Método, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso de um ácido graxo compreendendo 4 até 22 átomos de carbono.

25 5. Método, de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso de ácido láurico.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser laurato de potássio.

7. Método, de acordo com a reivindicação 1,  
5 caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um éster selecionado do grupo que consiste em um éster butílico, um éster etílico, um éster metílico, acilgraxo-Coenzima A, éster de sacarose e um monoglicerídeo.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7,  
10 caracterizado por o monoglycerídeo compreender uma fração glicerol ligada por uma ligação éster ou éter a um ou mais ácidos graxos possuindo desde 4 até 22 átomos de carbono ou a um ou mais álcoois graxos saturados ou insaturados possuindo desde 8 até 16 átomos de carbono.

15 9. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a toxina ser uma toxina *Stachybotrys*.

10. Método, de acordo com a reivindicação 1,  
caracterizado por o microorganismo ou outro agente infeccioso ser um fungo, uma bactéria, um esporo fúngico,  
20 um esporo bacteriano, um vírus ou um prion com conformação alterada.

11. Método, de acordo com a reivindicação 10,  
caracterizado por o esporo fúngico ser um esporo de *Stachybotrys chartarum*.

25 12. Método, de acordo com a reivindicação 10,  
caracterizado por o esporo bacteriano ser um esporo de *Bacillus atropheus*.

13. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o agente de guerra química consistir em VX, mostarda, sarin, soman, ou tabun.

14. Método, de acordo com a reivindicação 10, 5 caracterizado por o príon de conformação alterada ser selecionado do grupo que consiste em CJD, CWD, BSE, e Scrapie.

15. COMPOSIÇÃO, caracterizada por compreender em uma mistura:

10 (a) um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono; e

(b) um derivado de ácido graxo que é um sal ou éster solúvel no alanol, em que a composição tem um pH de 14 ou superior e em que o derivado de ácido graxo constitui 15 entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição.

16. Composição, de acordo com a reivindicação 15, caracterizada por constituir uma solução aquosa.

17. Composição, de acordo com a reivindicação 15, caracterizada por o alanol inferior consistir em metanol, 20 etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol ou misturas dos mesmos.

18. Composição, de acordo com a reivindicação 15, caracterizada por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso.

25 19. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizada por o ácido graxo consistir em um sal de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li), cálcio (Ca) ou

magnésio (Mg).

20. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizada por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso de um ácido graxo 5 compreendendo 4 até 22 átomos de carbono.

21. Composição, de acordo com a reivindicação 20, caracterizada por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso de ácido láurico.

22. Composição, de acordo com a reivindicação 21, 10 caracterizada por o derivado de ácido graxo ser laurato de potássio.

23. Composição, de acordo com a reivindicação 15, caracterizada por o derivado de ácido graxo ser um éster selecionado do grupo que consiste em um éster butílico, um 15 éster etílico, um éster metílico, acilgraxo-Coenzima A, éster de sacarose e um monoglicerídeo.

24. Composição, de acordo com a reivindicação 23, caracterizada por o monoglycerídeo compreender uma fração glicerol ligada por uma ligação éster ou éter a um ou mais 20 ácidos graxos possuindo desde 4 até 22 átomos de carbono ou a um ou mais álcoois graxos saturados ou insaturados possuindo desde 8 até 16 átomos de carbono.

25. Composição, de acordo com a reivindicação 15, caracterizada por compreender adicionalmente um ou mais 25 ingredientes selecionados do grupo que consiste em espessantes, emolientes, umectantes, inibidores de corrosão, agentes de propulsão, perfumes, flavorizantes,

des-espumantes, anti-oxidantes e corantes.

26. MÉTODO PARA TRATAMENTO DE UM MATERIAL, caracterizado por compreender:

(a) provisão de uma composição aquosa  
5 compreendendo uma mistura de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono e um derivado de ácido graxo consistindo em um sal ou éster com um pH de cerca de 14 ou superior, em que o derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição;

10 (b) aplicação da composição ao material em uma quantidade eficaz para tratar o material.

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado por uma composição resultante da etapa (b) ser removida do material.

15 28. MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO, caracterizado por compreender:

(a) provisão de um alanol inferior contendo 1 até 6 átomos de carbono;

20 (b) provisão de um derivado de ácido graxo que consiste em um sal ou éster solúvel no alanol; e

25 (c) mistura do alanol inferior e do derivado de ácido graxo para provisão da composição, em que a composição tem um pH de 14 ou superior e em que o derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25% por peso da composição.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por o alanol inferior consistir em etanol.

30. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por o derivado de ácido graxo consistir em um sal de metal alcalino ou alcalino terroso.

31. Método, de acordo com a reivindicação 30, 5 caracterizado por o ácido graxo consistir em um sal de sódio (Na), potássio (K), lítio (Li), cálcio (Ca) ou magnésio (Mg).

32. Método, de acordo com a reivindicação 30, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um sal de 10 metal alcalino ou alcalino terroso de um ácido graxo compreendendo 4 até 22 átomos de carbono.

33. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um sal de metal alcalino ou alcalino terroso de ácido láurico.

15 34. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser laurato de potássio.

35. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um éster 20 selecionado do grupo que consiste em um éster butílico, um éster etílico, um éster metílico, acilgraxo-Coenzima A, éster de sacarose e um monoglicerídeo.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, caracterizado por o monoglicerídeo compreender uma fração 25 glicerol ligada por uma ligação éster ou éter a um ou mais ácidos graxos possuindo desde 4 até 22 átomos de carbono ou a um ou mais álcoois graxos saturados ou insaturados

possuindo desde 8 até 16 átomos de carbono.

37. MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO, caracterizado por compreender:

- (a) provisão de um alanol inferior contendo 1  
5 até 6 átomos de carbono;
- (b) provisão de um ácido graxo;
- (c) provisão de um agente de alcalinização; e
- (d) mistura do alanol inferior, do ácido graxo  
e do agente de alcalinização para provisão da composição,  
10 em que a composição tem um pH de 14 ou superior e em que o  
derivado de ácido graxo constitui entre cerca de 0,1% e 25%  
por peso da composição.

38. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado por o alanol inferior consistir em etanol.

15 39. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado por o derivado de ácido graxo ser um ácido graxo compreendendo 4 até 22 átomos de carbono.

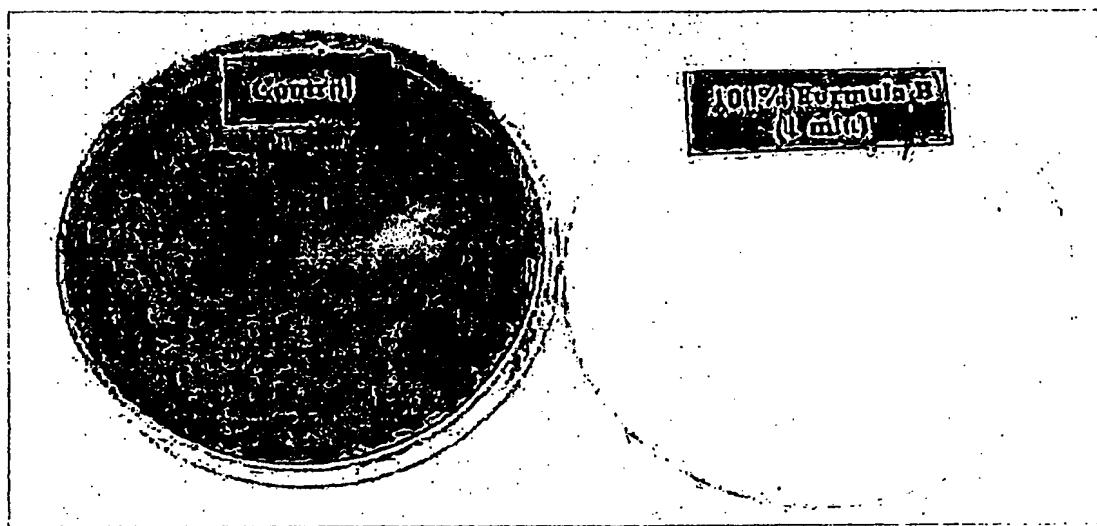
40. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado por o ácido graxo ser ácido láurico.

20 41. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado por o agente de alcalinização ser selecionado do grupo que consiste em um hidróxido de metal alcalino, hidróxidos de metais alcalinos terrosos, carbonatos de hidrogênio ou metais alcalinos e misturas dos mesmos.

25 42. Método, de acordo com a reivindicação 32, caracterizado por o agente de alcalinização ser selecionado do grupo que consiste em hidróxido de amônio, hidróxido de

alumínio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de lítio, hidróxido de cálcio, hidróxido de magnésio, carbonato de sódio, hidrogênio carbonato (bicarbonato) de sódio, e misturas dos mesmos.

**EFEITO DE FB A 100% NA REDUÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)**

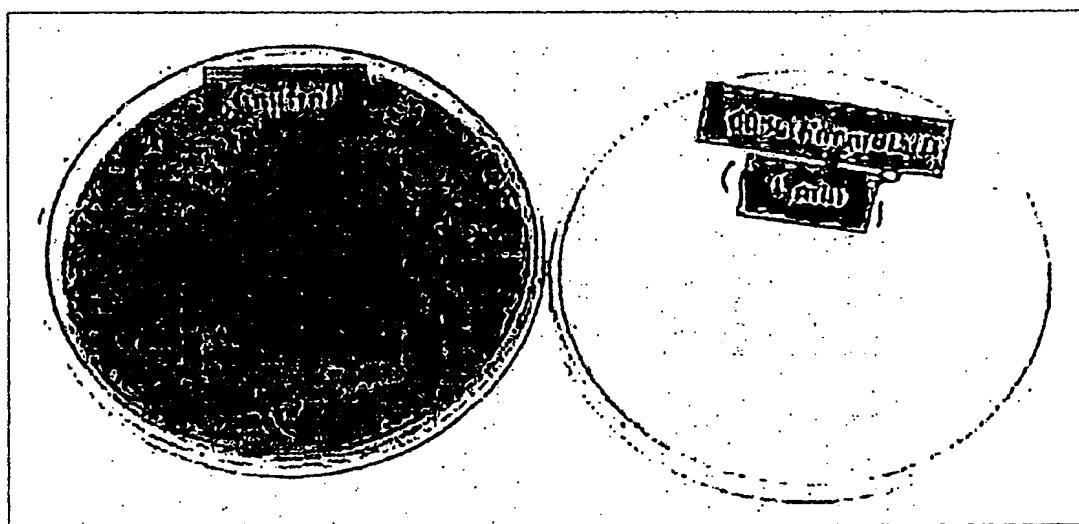


**CONTROLE**

**FB A 100% (1 min de tempo de contato)**

**FIG. 1A**

**EFEITO DE FB A 60% NA REDUÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)**

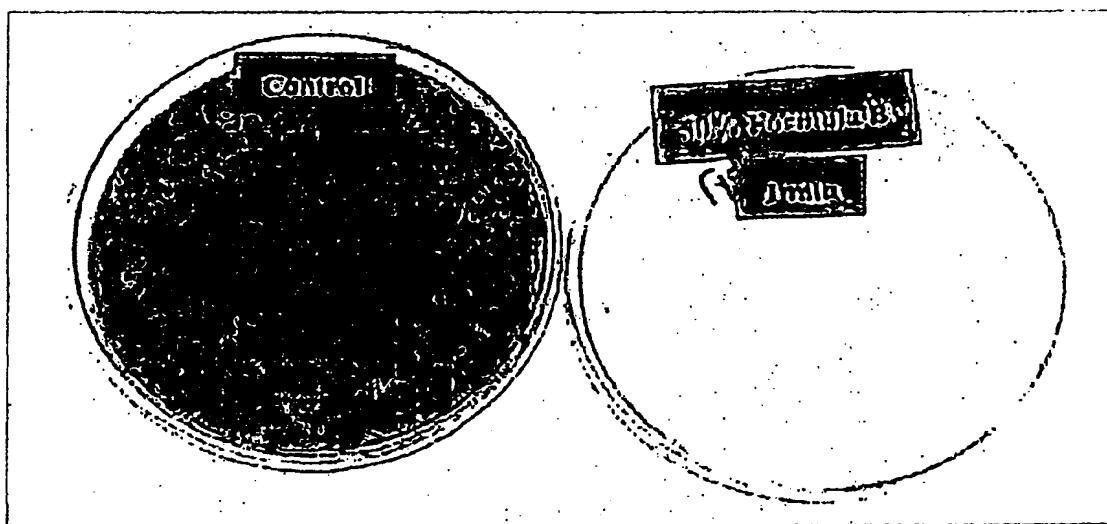


CONTROLE

FB A 60% (1 min de tempo de contato)

**FIG. 1B**

**EFEITO DE FB A 50% NA REDUÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)**

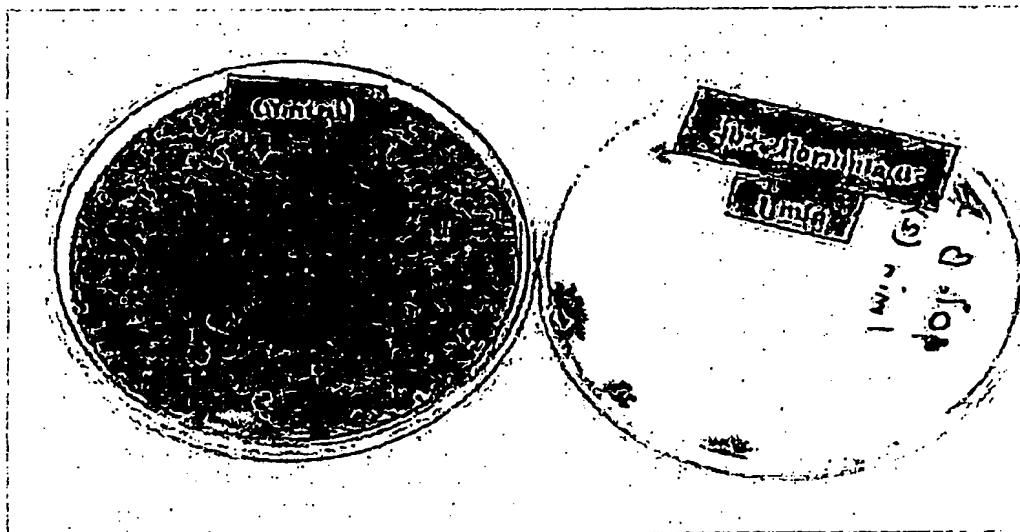


CONTROLE

FB A 50% (1 min de tempo de contato)

**FIG. 1C**

**EFEITO DE FB A 40% NA REDUÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)**

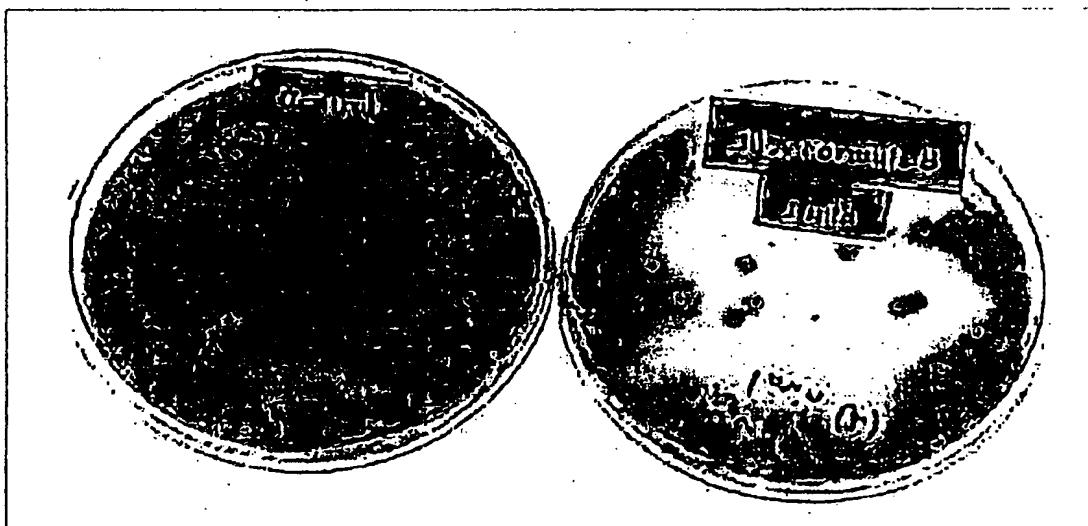


**CONTROLE**

**FB A 40% (1 min de tempo de contato)**

**FIG. 1D**

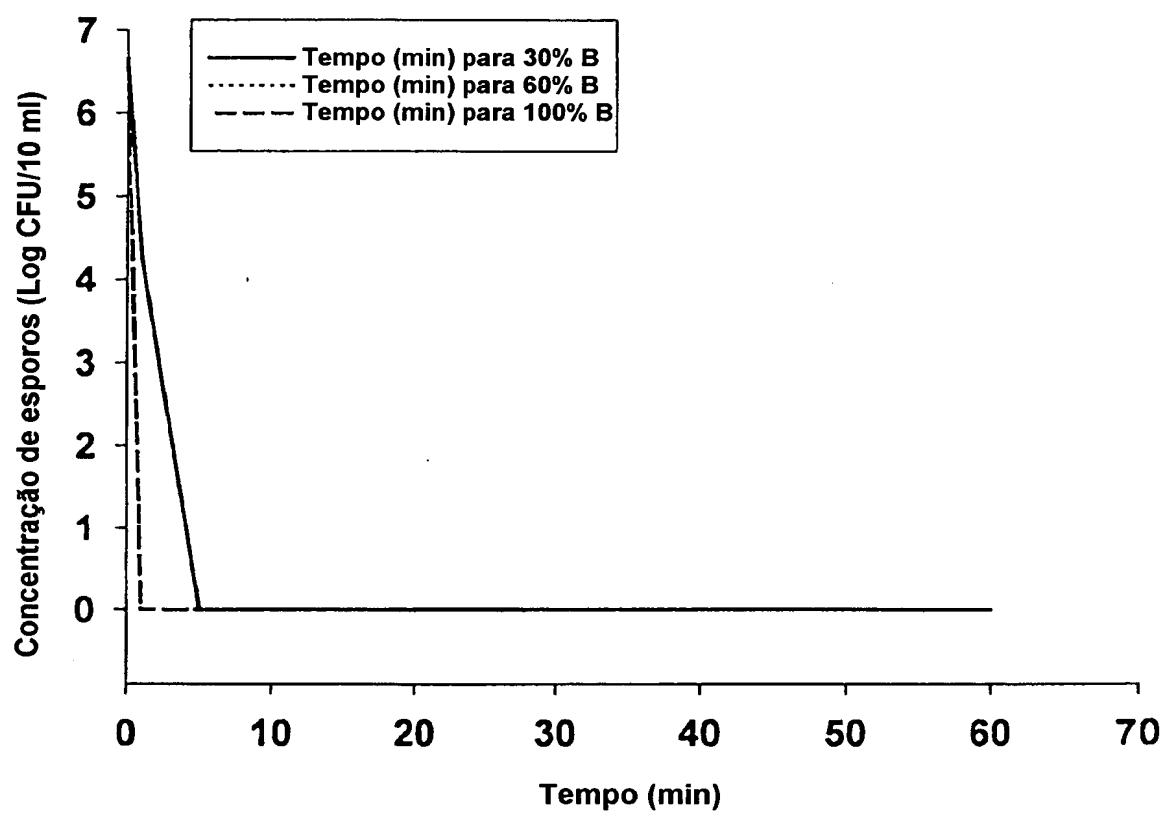
**EFEITO DE FB A 30% NA REDUÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)**



CONTROLE

FB A 30% (1 min de tempo de contato)

**FIG. 1E**



**FIG. 2**

EFEITO DE NaOCl a 12,5% NA ELIMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)

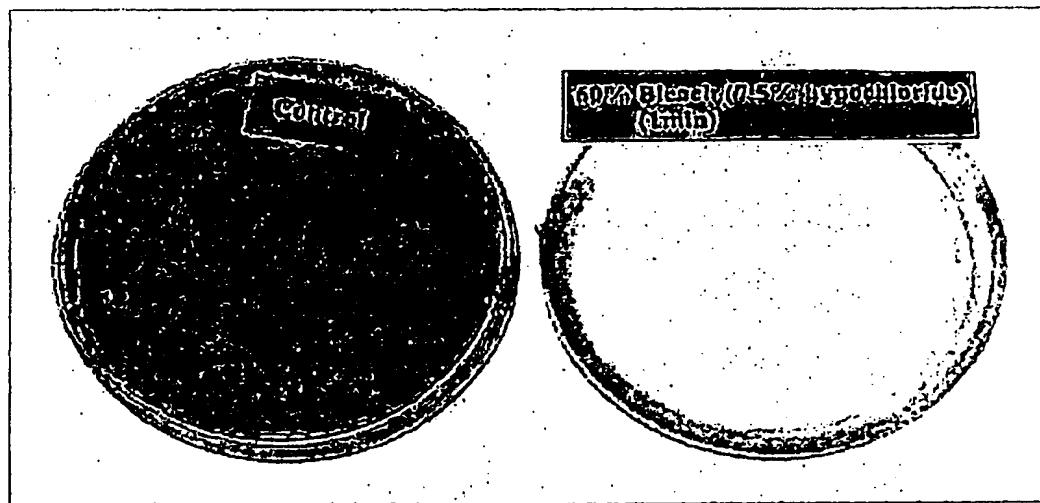


CONTROLE

NaOCl (1 min de tempo de contato)

**FIG. 3A**

EFEITO DE NaOCl a 7,5% NA ELIMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)

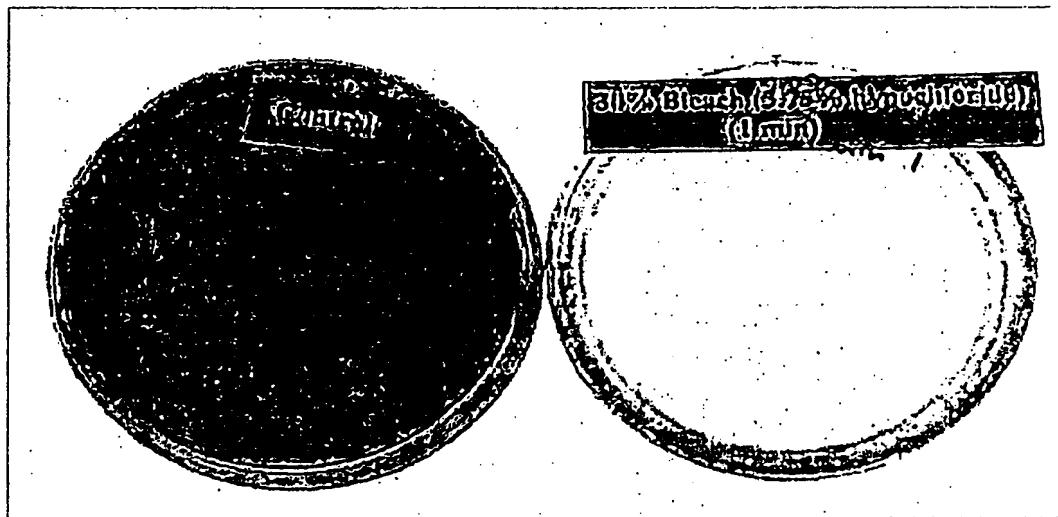


CONTROLE

NaOCl (1 min de tempo de contato)

**FIG. 3B**

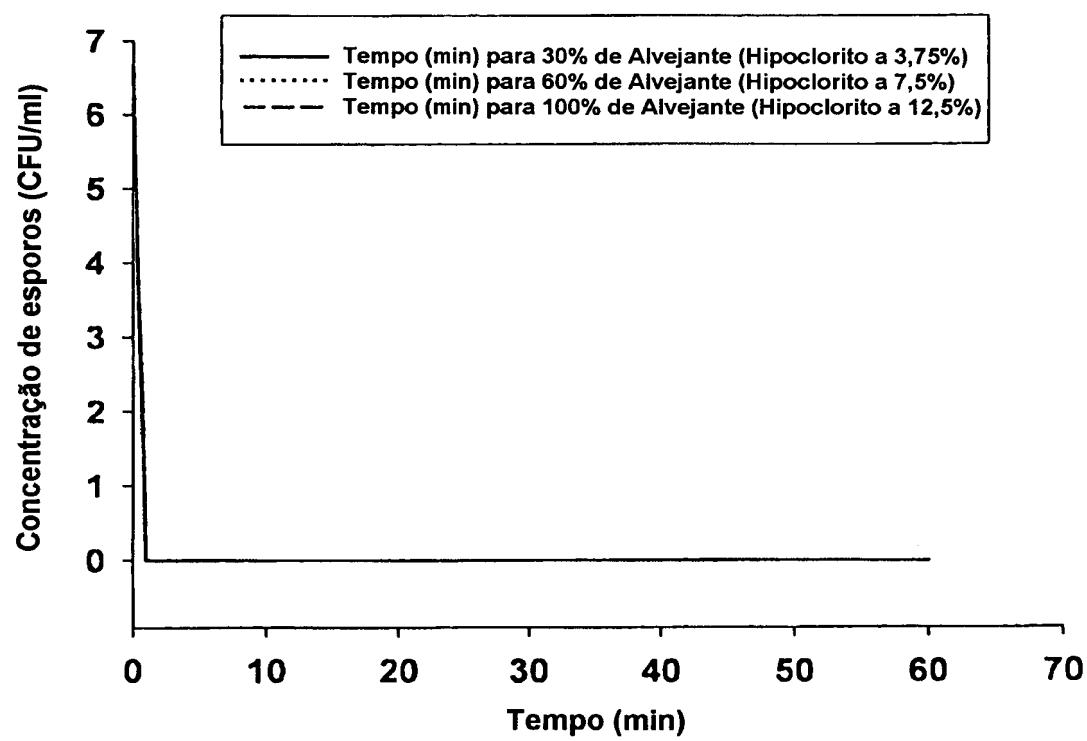
**EFEITO DE NaOCl a 3,75% NA ELIMINAÇÃO DE ESPOROS DE FUMAGINA (“BLACK MOLD”)**

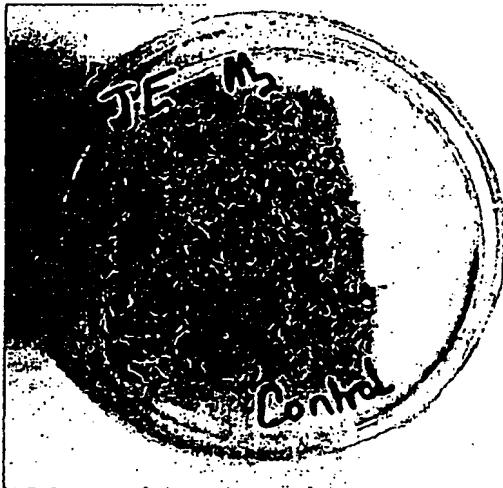


**CONTROLE**

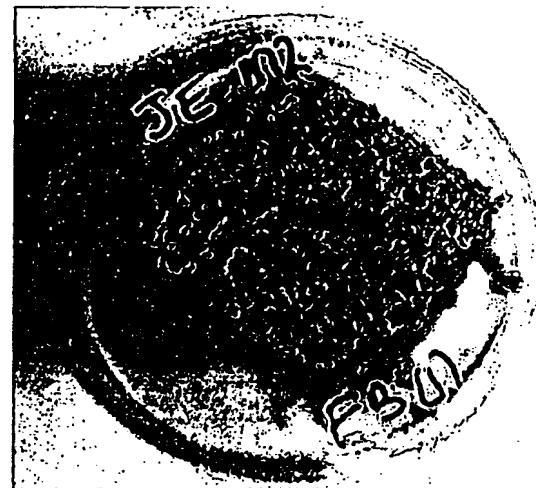
**NaOCl (1 min de tempo de contato)**

**FIG. 3C**

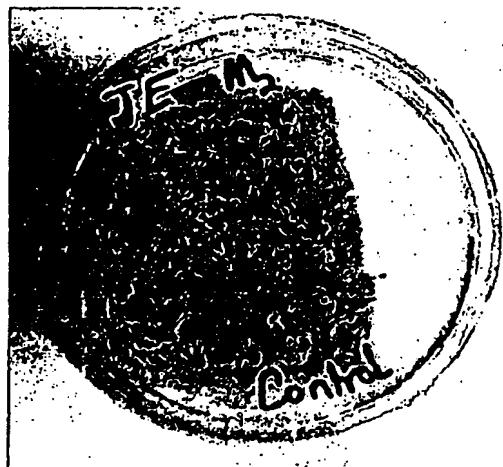
**FIG. 4**



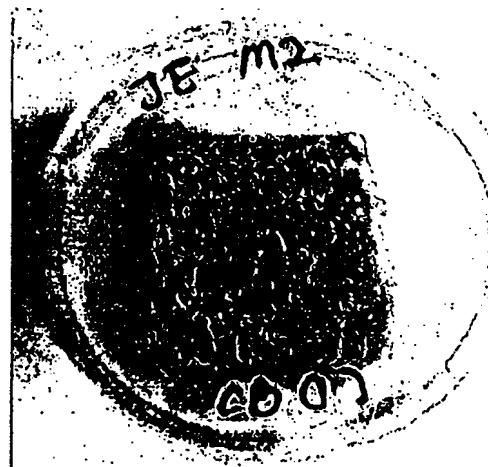
Inoculação com Stachybotrys



Inoculação/Tratamento com a  
composição (FB a 50%)

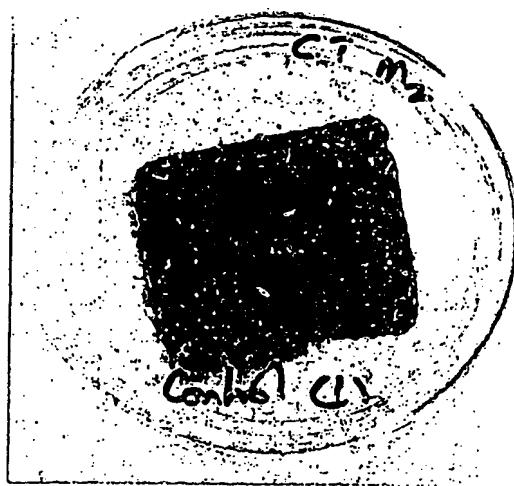


Inoculação com Stachybotrys

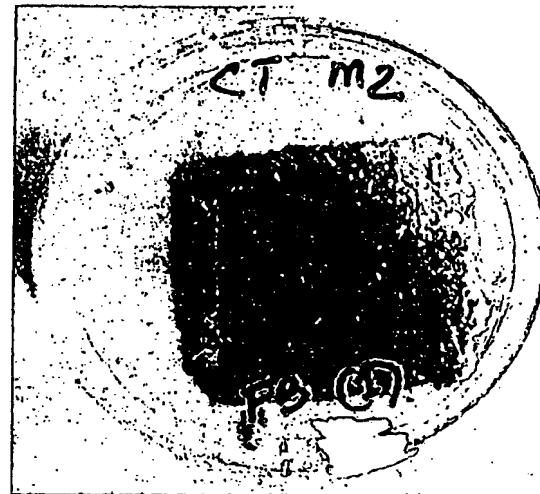


Inoculação/Tratamento com  
alvejante Clorox Doméstico

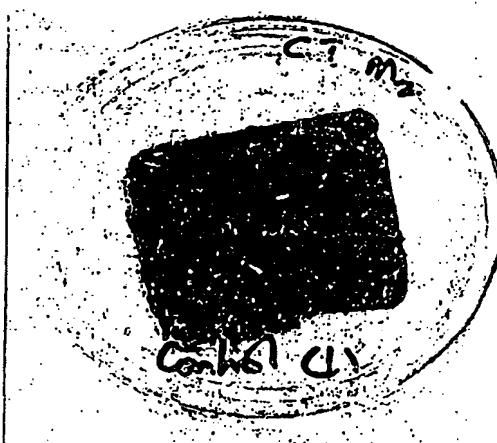
**FIG. 5**



Inoculação com Stachybotrys



Inoculação/Tratamento com a  
composição (FB a 50%)

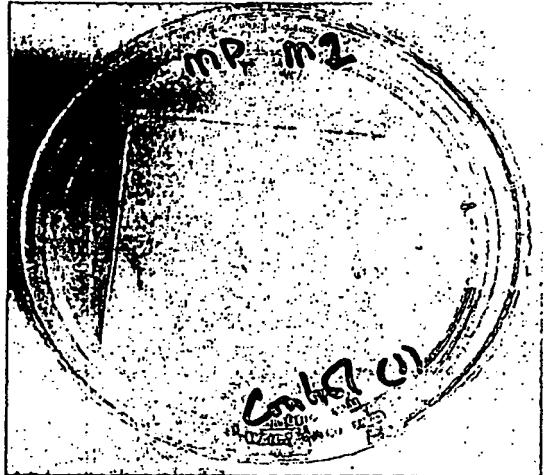


Inoculação com Stachybotrys

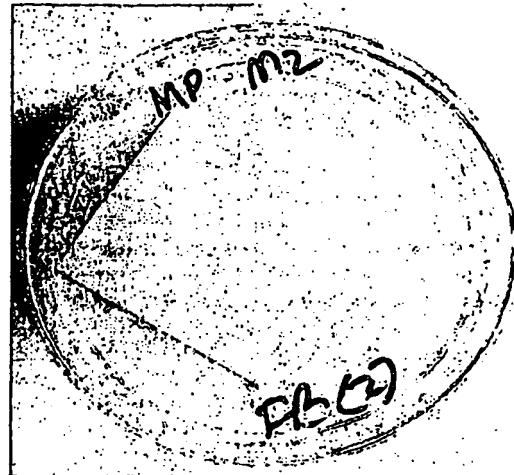


Inoculação/Tratamento com  
alvejante Clorox Doméstico

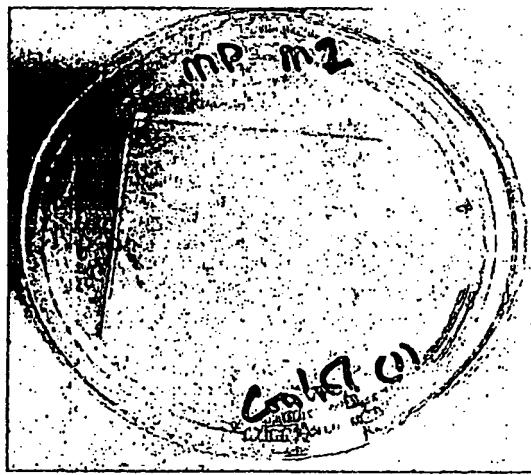
**FIG. 6**



Inoculação com Stachybotrys



Inoculação/Tratamento com a  
composição (FB a 50%)

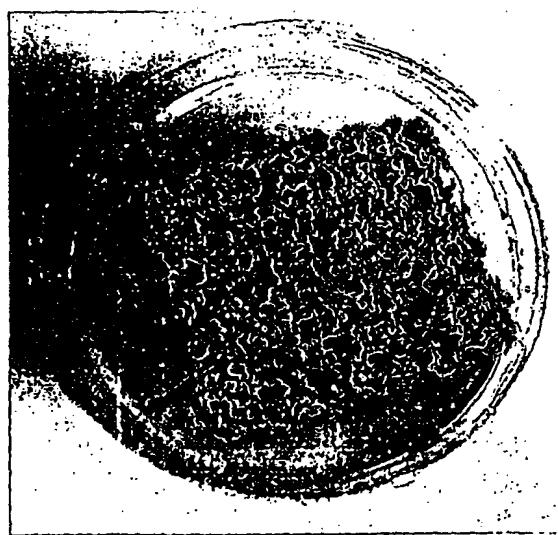


Inoculação com Stachybotrys

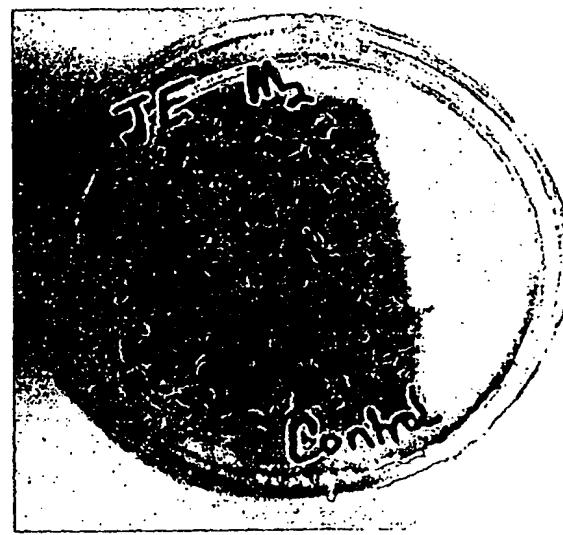


Inoculação/Tratamento com  
alvejante Clorox Doméstico

**FIG. 7**

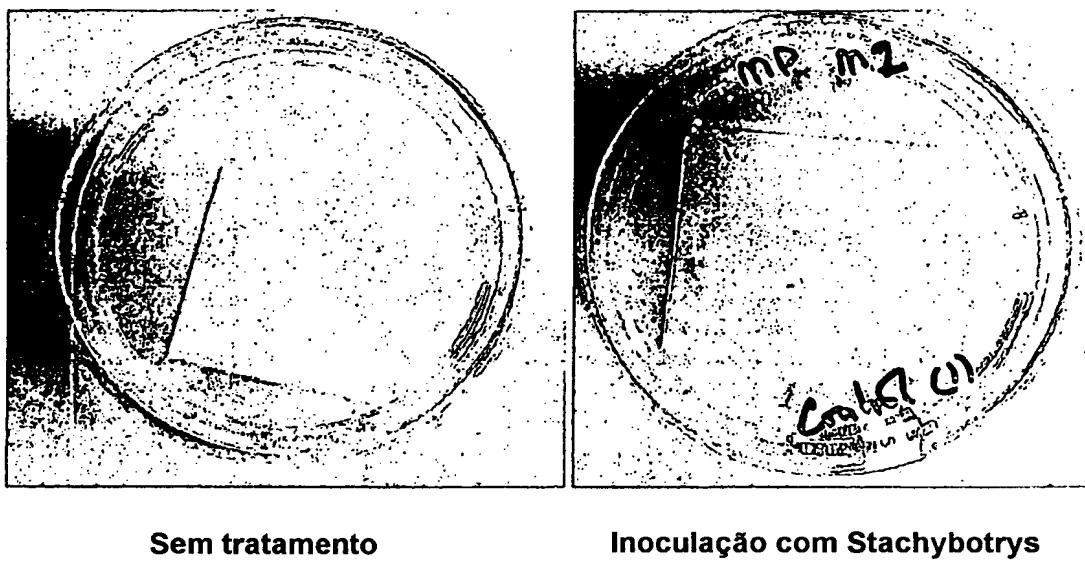


Sem tratamento

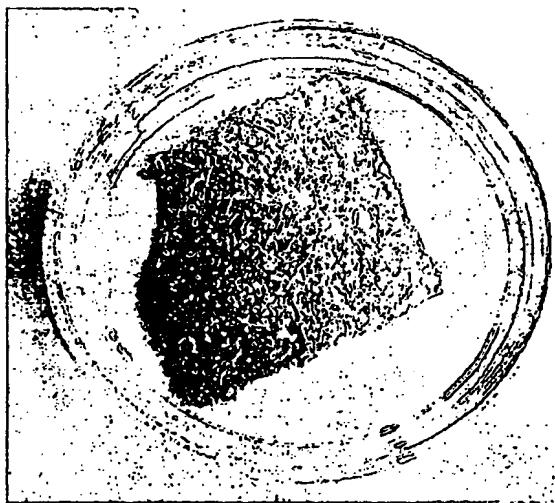


Inoculação com *Stachybotrys*

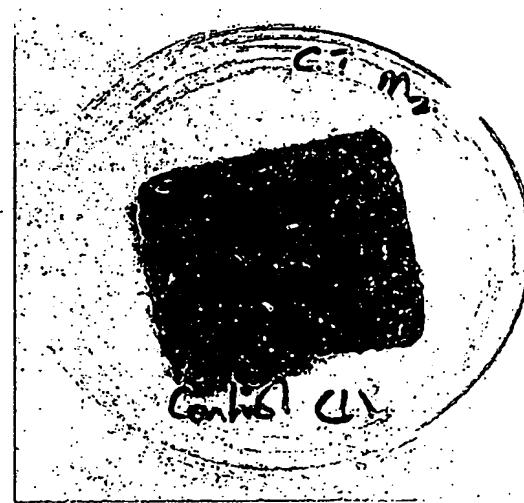
**FIG. 8**



**FIG. 9**

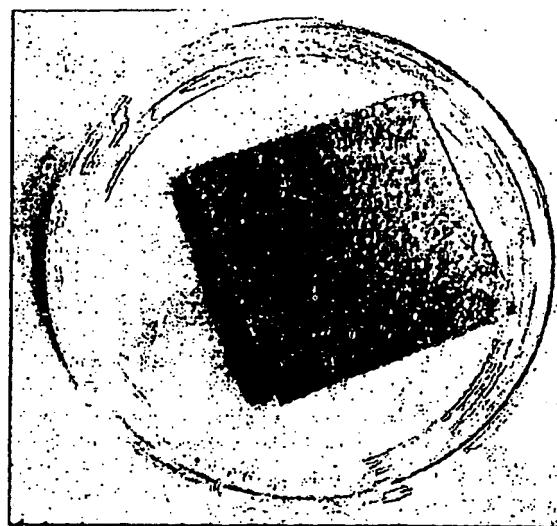


Sem tratamento



Inoculação com Stachybotrys

**FIG. 10**



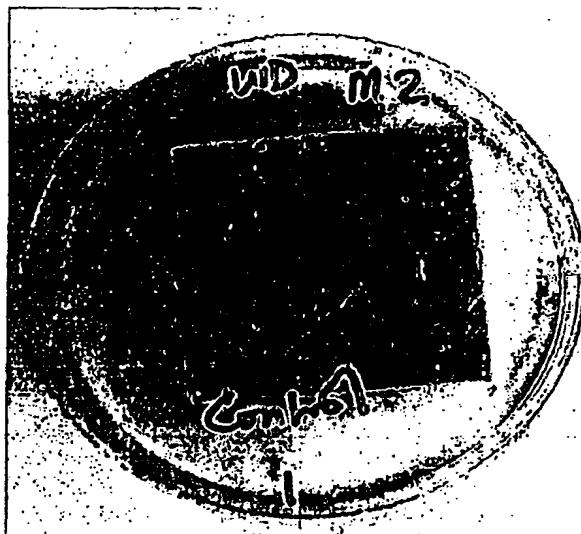
CONTROLE (Sem tratamento)

**FIG. 11A**



Inoculação com Esporos de Fumagina (“Black Mold”)

**FIG. 11B**



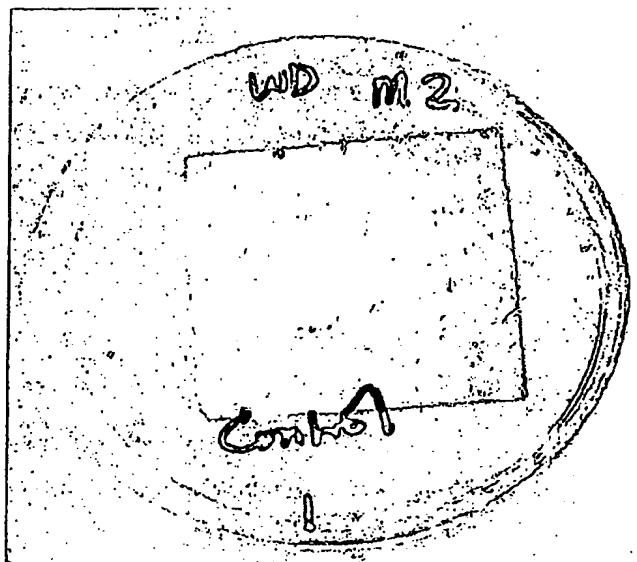
Inoculação com Esporos de Fumagina (“Black Mold”)

**FIG. 11C**



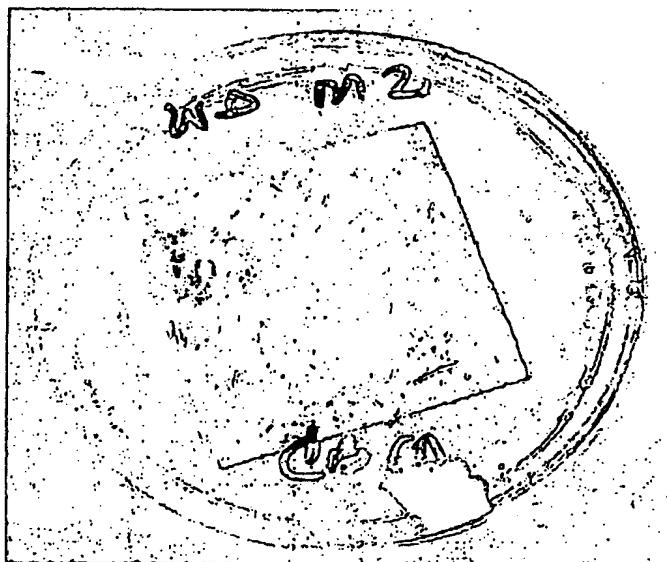
Inoculação/Tratamento com FB a 50%

**FIG. 11D**



Inoculação com Esporos de Fumagina (“Black Mold”)

**FIG. 11E**



Inoculação/Tratamento com NaOCl

**FIG. 11F**

## - RESUMO -

MÉTODO PARA HIGIENIZAÇÃO DE UM MATERIAL, COMPOSIÇÃO, MÉTODO PARA TRATAMENTO DE UM MATERIAL, E MÉTODO DE FABRICAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO

5 Trata-se de uma composição e um método para higienização ou outra forma de tratamento de um material tal como uma superfície não viva, um tecido vivo, solo ou atmosfera que podem encontrar-se contaminados por uma toxina, por um agente de guerra química, um inseto, um  
10 príon, um microorganismo ou outro agente infeccioso. São também descritos métodos de fabricação da composição.