

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 321**

51 Int. Cl.:

A01N 37/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.09.2007 E 07804980 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2013 EP 2081428**

54 Título: **Composición contra la pediculosis con efecto asfixiante para piojos**

30 Prioridad:

26.09.2006 IT MI20061825

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.10.2013

73 Titular/es:

**GIULIANI S.P.A. (100.0%)
VIA P. PALAGI 2
20129 MILANO, IT**

72 Inventor/es:

**GIULIANI, GIAMMARIA y
BENEDUSI, ANNA**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 424 321 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición contra la pediculosis con efecto asfixiante para piojos.

5 La presente invención se refiere a una composición contra la pediculosis con efecto asfixiante para piojos.

La presente invención procede del sector de los productos cosméticos y de la ayuda médica-quirúrgica/recursos médicos que tienen una acción contra la pediculosis.

10 En particular, la presente invención se refiere a preparaciones para uso externo con acción pediculicida, ovicida o preventiva contra las infestaciones parasitarias del cuero cabelludo.

El término pediculosis se refiere a las infestaciones por piojos (*Pediculus Humanus*), parásitos conocidos que anidan y se desarrollan sólo en el cuero cabelludo.

15 Los piojos tienen dimensiones de aproximadamente 2-3 mm, y tienen un cuerpo plano de color amarillo-parduzco, con seis patas en cuyos extremos hay una uña ganchuda utilizado para sujetarse al cuero cabelludo. El aparato bucal consiste en una pica punzante adecuado para la succión. Una vez el pico ha penetrado en la piel se fija con pequeños dientes móviles.

20 Al morder, los piojos segregan una sustancia que tiene un efecto anestésico en la piel a fin de no irritar el organismo hospedador y por consiguiente limitar cualquier reacción adversa.

25 Los piojos también inyectan una sustancia anticoagulante que fluidifica la sangre durante la succión permitiendo una succión prolongada durante varias horas. La cantidad de sangre succionada es de aproximadamente 1 mg, sumamente alta con respecto a la masa parasitaria. Los piojos se alimentan dos veces al día durante toda su vida. Su cabeza tiene dos pequeñas antenas cuya función es la de detectar la temperatura y dirigir el parásito hacia la búsqueda de: alimentos y una pareja.

30 Los piojos también tienen un sistema de visión rudimentario cuya finalidad probablemente es sólo la de percibir las variaciones luminosas, ya que los huevos se depositan en la oscuridad.

El ciclo de reproducción de los piojos procede de las liendres (huevos) que se suelen encontrar en la región retroauricular y en la nuca a la que se sujetan gracias a una sustancia adhesiva que segregan.

35 Los huevos eclosionan después de una semana, y el piojo comienza a desarrollarse gracias al suministro de sangre que succiona al picar el cuero cabelludo y que ocasiona una fuerte picazón.

40 Los huevos, resistentes a muchos insecticidas, se sujetan a la raíz del pelo por medio de una secreción viscosa insoluble en agua. Los huevos eclosionan después de aproximadamente diez días, el pequeño piojo es reproductivo después de dos semanas durante las cuales muda tres veces. La vida de los piojos es de veinte días para los machos y cuarenta días para las hembras.

45 La temperatura correcta del organismo hospedador es un factor sumamente importante, ya que los piojos abandonan inmediatamente la cabeza cuando hay una fuerte subida térmica. La eficacia de agarre de un piojo en el pelo es un factor muy importante para su supervivencia debido al hecho de que, fuera de su hábitat sólo tendría unas pocas horas de vida, ya que moriría de hambre y frío.

50 A fin de asegurar la supervivencia de la especie, el parásito ha tenido que desarrollar su capacidad de reproducción. Al poner una decena de huevos al día durante toda su existencia, la hembra puede de hecho garantizar más de trescientos descendientes directos. En un mes, cada hembra puede reproducirse en un descenso global de unos 45.000 individuos, que después de dos meses alcanzaría la cantidad alarmante de 6.750.000. Afortunadamente, en realidad, no todos los individuos sobreviven, otros se eliminan con el cepillado o rascado. Los piojos son una de las pocas especies de vida que no han experimentado cambios con las variaciones en el clima y las costumbres cotidianas de los seres humanos.

55 El cuero cabelludo es, de hecho, un pequeño nicho ecológico que sólo ha experimentado cambios mínimos a lo largo de los siglos; el creciente número de seres humanos ha representado, para este parásito, una oportunidad significativamente mayor para la vida y la reproducción.

60 Hay muchas razones para la repetición de esta plaga molesta: su capacidad de reproducción eficiente; la dispersión en el entorno debido al cepillado, rascado, buceo, el uso promiscuo de pañuelos, sillones, reposacabezas, sombreros, gorras, peines ..., la capacidad, si se le expulsa de la búsqueda de un nuevo organismo hospedador.

65 La probabilidad de contagio a la vista de las costumbres de vida de hoy en día ha aumentado enormemente con respecto al pasado; larga permanencia en lugares muy concurridos, tales como los entornos de trabajo, las

escuelas, los medios de transporte público y los gimnasios no formaban parte en realidad de las costumbres cotidianas de nuestros antepasados. Los niños tienen una mayor probabilidad de contagio debido a sus juegos y más intensa vida social.

5 Se conocen viejos remedios para el tratamiento de los piojos, tal como el lavado del pelo con vinagre para desmenuar los huevos y afeitado del cuero cabelludo. También se conoce la utilización de ungüentos de mercurio y DDT.

10 Diversos productos biocidas específicos están actualmente presentes en el mercado para el tratamiento de las infestaciones por piojos, basados en principios activos muy tóxicos tales como el malatión, d-fenotrina, piretrina y el butóxido de piperonilo.

15 La utilización de estos productos sin embargo no está exenta de inconvenientes, entre los cuales un cierto grado de toxicidad y el riesgo de desencadenar reacciones alérgicas que en muchos casos causan la interrupción y por consiguiente el tratamiento de desinfestación infructuoso.

Por otra parte, ningún tratamiento es eficaz desde la primera aplicación y éste se debe repetir por consiguiente a la semana para eliminar las larvas nacidas de los huevos sobrevivientes.

20 El documento WO 0072814 da a conocer composiciones para la eliminación de ectoparásitos que comprenden 6 al 18% de agentes emolientes, incluyendo entre otros ésteres dicaprilato/dicaprato.

25 El documento WO 2005/027636 da a conocer composiciones que comprenden ésteres de ácido graso de alcoholes mono-, di-, tri- o poli-hídricos para el control de ectoparásitos.

El documento EP 1 308 153 da a conocer crema solar repelente de insectos, que comprende dicaprilato/dicaprato de butilenglicol como componente oleoso.

30 En Italia, por otra parte, como también en los Estados Unidos, Inglaterra y otros países, se ha encontrado que hay una resistencia cada vez mayor por parte de los piojos a los principios activos utilizados hasta ahora, con un tratamiento ineficaz consiguiente de aproximadamente 1 niño de cada 4.

35 Por tanto, la necesidad se hace sentir en el estado actual de la técnica para hacer uso de nuevos productos con acción contra la pediculosis.

Uno de los objetivos de la presente invención consiste por consiguiente en proporcionar una composición contra la pediculosis que sea muy eficaz en el tratamiento de las infestaciones de piojos, y que tenga una baja toxicidad para el organismo humano.

40 Un objetivo adicional de la presente invención consiste en proporcionar una composición contra la pediculosis que sea capaz de eliminar también eficazmente las formas de piojos y larvas que son resistentes a los productos biocidas presentes actualmente en el mercado.

45 Un objetivo adicional de la presente invención consiste en proporcionar una preparación para la desinfestación del cuero cabelludo de piojos y larvas cuya utilización implica bajos riesgos de desarrollar reacciones de tipo alérgico que pueden causar la interrupción del tratamiento.

50 La invención se refiere a la utilización de dicaprato-dicaprilato de butilenglicol para la producción de una composición destinada al tratamiento externo de desinfestaciones en la parte de ectoparásitos, en la que dicho dicaprato-dicaprilato de butilenglicol está presente en una cantidad $\geq 20\%$ en peso, ventajosamente $\geq 40\%$ en peso en dicha composición.

55 El solicitante ha encontrado ahora que el dicaprato-dicaprilato de butilenglicol, un compuesto oleoso, que hasta ahora se ha utilizado como un componente oleoso en formulaciones para uso cosmético, ejerce inesperadamente una acción contra la pediculosis. El término "contra la pediculosis" significa que designa y que comprende tanto una acción desinfestante directa sobre los parásitos, por lo general piojos, como también una acción ovicida directa sobre las larvas y los huevos.

60 El solicitante también ha encontrado que este efecto pediculicida/ovicida puede atribuirse principalmente a un efecto asfixiante y de inhibición del flujo de oxígeno debido a la volatilidad en fase gaseosa y al efecto filmógeno del dicaprato-dicaprilato de butilenglicol sobre los ectoparásitos en general y en particular, sobre los tipos más comunes de piojos que infestan la población humana.

65 También se ha encontrado que el uso externo del principio activo dicaprato-dicaprilato de butilenglicol conlleva bajos riesgos de toxicidad y una incidencia reducida de los posibles efectos secundarios en particular de tipo alérgico.

Según una forma de realización de la presente invención, está previsto la utilización de dicaprato-dicaprilato de butilenglicol en el tratamiento cosmético del cuero cabelludo infestado por ectoparásitos, en particular piojos y/o huevos/larvas.

- 5 Según esta forma de realización de la invención, el principio activo dicaprato-dicaprilato de butilenglicol se formula en una preparación que contiene uno o más vehículos o excipientes cosméticamente aceptables.

10 Según una forma de realización, esta composición de cosmética comprende urea, ácido láctico y arginina. La acción queratoplástica de la urea presente preferentemente en una alta concentración, estabilizada por el tampón de ácido láctico-arginina, permite un efecto de reblandecimiento del cabello y facilitaba el desprendimiento de cualquier material que se adhiere a ella.

15 Según otra forma de realización, se prevé la presencia de un potenciador de penetración, tal como, por ejemplo, pentilenglicol, etilhexilglicerina, agentes emulsionantes con una cadena oleílica, preferentemente con actividad antibacteriana, lo que permite tanto la difusión en profundidad como la disolución de otros posible principios activos de origen vegetal, tales como, por ejemplo, anetol, terpineol, aceite de nim, aceite de canela, aceite de andiroba, aceite de melaleuca.

20 Otro aspecto de la invención prevé la utilización de dicaprato-dicaprilato de butilenglicol para la producción de una ayuda médica-quirúrgica para el tratamiento de las infestaciones por parte de ectoparásitos y piojos en particular.

La forma de emulsión improvisada bifásica permite optimizar el contenido en principios activos en las dos fases separadas y mantiene la capacidad de distribución extrema del producto sobre la piel.

25 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición para desinfestar el cuero cabelludo de piojos y larvas caracterizada porque comprende dicaprato-dicaprilato de butilenglicol en una cantidad eficaz desde un punto de vista antiparasitario y un excipiente fisiológicamente aceptable en la que el dicaprato-dicaprilato de butilenglicol está presente en una cantidad igual o superior al 20% en peso y aún más preferentemente igual o superior al 40% en peso con respecto al peso total de la composición de desinfestación.

30 Las composiciones para la aplicación tópica de la invención pueden estar en forma líquida por lo general como emulsiones agua-aceite, o como soluciones en las que la fase oleosa está muy dispersada en la fase acuosa o también como un champú. También son posibles las formas semisólidas, tales como geles, o también con una mayor consistencia, tales como cremas, ungüentos, pomadas y máscaras.

35 Las composiciones para la aplicación local de la invención pueden comprender convenientemente aditivos utilizados comúnmente en preparaciones cosméticas o farmacéuticas para uso local, tales como conservantes, estabilizantes, agentes emulsionantes, tampones, colorantes y otros excipientes comúnmente utilizados en las técnicas de preparación cosmética/farmacéutica.

40 En el caso de formulaciones líquidas, los principios activos sinérgicos de la invención se pueden disolver convenientemente en un excipiente líquido cosméticamente/farmacéuticamente aceptable tal como agua, alcohol, hidro-alcohol, solución de glicerina y otros tipos adecuados para la aplicación local.

45 Las composiciones de la invención en forma líquida se pueden preparar, por ejemplo, emulsionando los componentes del aceite tales como dicaprato-dicaprilato de butilenglicol en agua y añadiendo los excipientes adecuados.

50 La mezcla/emulsión resultante por lo general puede tamponarse para llegar a un nivel de pH convenientemente seleccionado entre 5 y 7 para que sea compatible con el pH de la piel y posteriormente se filtra y envasa en envases adecuados listos para su uso.

55 Según una forma de realización preferida, la composición de la invención se suministra como una loción bifásica de agua/aceite adecuada para la aplicación por pulverización recurriendo, por ejemplo, a una cánula orientable. Esta forma de administración es particularmente adecuada, ya que facilita la asfixia física de los piojos.

60 El tiempo de colocación de la emulsión en el cuero cabelludo normalmente varía entre 5 y 20 minutos y preferentemente es igual a unos 15 minutos. Después del uso, la fase oleosa se puede retirar fácilmente lavando con un champú normal.

La composición para uso local de la invención se utiliza para aplicaciones, en una cantidad antiparasitaria eficaz, directamente en la región del cuero cabelludo sometida a la infestación o más convenientemente en el conjunto de la cabeza.

65 La composición de la invención también se puede formular como un agente detergente o champú cuya composición incluye agentes tensioactivos, agentes de acondicionamiento adecuados para facilitar la eliminación de piojos,

además de los agentes aliviadores adecuados para mitigar la irritación del cuero cabelludo y la sensación de picazón.

5 La presencia de mezclas de agentes tensioactivos es adecuada para facilitar la eliminación del aceite de tratamiento antipiojos de la invención.

Según una forma de realización, la formulación en forma de champú también contiene un aceite de origen natural (*Minga andiroba*) con actividad repelente documentada con respecto a los piojos.

10 Según otra forma de realización, se prevé la presencia de vinagre de manzana, que, al reducir el pH, crea un ambiente de anidación desfavorable para los piojos.

15 Según esta forma de realización de la invención, el champú se aplica también para la prevención de las infestaciones de piojos durante los períodos del año en los que el problema de infestaciones está difundido más ampliamente.

20 Si se utiliza una formulación a base de un sólido o semisólido, tales como cremas, bálsamos capilares, el dicaprato-dicaprilato de butilenglicol se encuentra en forma dispersa en excipientes cosméticamente/farmacéuticamente aceptables, comúnmente utilizados para aplicación tópica.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento de tratamiento cosmético, que comprende la aplicación local, en el cuero cabelludo, de una cantidad eficaz de una composición contra la pediculosis como se describió anteriormente.

25 Según otra forma de realización, se proporciona un procedimiento para desinfestar el cuero cabelludo de los parásitos, en particular piojos y larvas que comprende la aplicación local de una composición contra la pediculosis del tipo descrito anteriormente a una persona en necesidad de tratamiento.

30 Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines puramente ilustrativos de la presente invención y no deben considerarse restrictivos del alcance de protección que se indica en las reivindicaciones anteriores.

Ejemplo 1

35 Se describe una composición de la invención, en forma de loción bifásica de agua/aceite adecuada para la aplicación en el cuero cabelludo. Antes de su uso, es recomendable agitar la formulación para optimizar la dispersión en agua del componente oleoso.

Loción contra la pediculosis

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Dicaprato-dicaprilato de butilenglicol	Compuesto asfixiante para piojos	48,30
Anetol	Aromatizante	12,00
Etilhexilglicerina	Emoliente	9,99
Pentilenglicol	Conservante	5,40
Urea	Queratolítico activo	5,00
Oleato de sorbitán	Excipiente	5,00
Agua	Excipiente	4,78
Polisorbato 80	Disolvente	4,01
Éter estearílico PPG-15	Emoliente	1,35
4-Terpineol	Antioxidante activo	0,99
Aceite de semillas de <i>Melia azadirachta</i>	Normalizador activo	0,99
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Aromatizante	0,99
Aceite de semillas de <i>Carapa guianensis</i>	Emoliente	0,99
CI 61565	Colorante liposoluble	0,00
Arginina	Ajustador de pH	0,10
Ácido láctico	Ajustador de pH	0,12
CI 19140	Colorante hidrosoluble	0,00
		100,00

40 **Ejemplo 2**

Loción contra la pediculosis

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Agua	Disolvente	42,92
Polímero en cruz acrilatos C10/30 alquil acrilatos	Emulsionante	0,35

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Dicaprato-dicaprilato de butilenglicol	Compuesto asfixiante para piojos	50,00
Hidróxido sódico (solución al 18%)	Ajustador de pH	0,35
Urea	Queratolítico activo	5,00
Estearato de glicerilo	Emulsionante	0,10
Ceteth 20	Emulsionante	0,10
Fenoxietanol	Conservante	0,80
Metilparabeno	Conservante	0,20
Etilparabeno	Conservante	0,10
Ácido láctico	Ajustador de pH	0,08
		100,00

Ejemplo 3 (Ejemplo comparativo, que no forma parte de la invención)

Champú de aceite contra la pediculosis

5

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Agua		39,00
Cocoato de glicerilo PEG-7	Tensioactivo no iónico	20,00
Glicéridos caprílico cáprico PEG-6	Tensioactivo no iónico	15,83
Cocoanfoacetato sódico	Tensioactivo anfotérico	7,00
Silicona quaternium-15	Acondicionante	1,00
Dicaprato-dicaprilato de butilenglicol	Compuesto asfixiante para piojos	10,00
Anetol	Aromatizante	4,00
4-terpineol	Antioxidante activo	0,99
Aceite de semillas de <i>Melia azadirachta</i>	Normalizador activo	0,99
Aceite de semillas de <i>Carapa guianensis</i>	Emoliente	0,99
Trietanolamina	Ajustador de pH	0,10
Ácido láctico	Ajustador de pH	0,10
		100,00

Ejemplo 4

Champú iónico concentrado contra la pediculosis

10

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Dicaprato-dicaprilato de butilenglicol	Compuesto asfixiante para piojos	35,00
Anetol	Aromatizante	10,00
Laurilsulfato sódico	Tensioactivo	35,00
Lauroilsarcosinato sódico	Tensioactivo	5,04
Cocamidopropil betaína	Tensioactivo	10,00
Glicerilcocoato PEG-7	Desengrasante	1,00
4-terpineol	Antioxidante activo	0,99
Aceite de semillas de <i>Melia azadirachta</i>	Normalizador activo	0,99
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Aromatizante	0,99
Aceite de semillas de <i>Carapa guianensis</i>	Emoliente	0,99
		100,00

Ejemplo 5

Espuma contra la pediculosis

15

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Steareth-21	Emulsionante	5,00
Steareth-2	Emulsionante	4,00
Éter estearílico PPG-15		4,00
Dicaprato-dicaprilato de butilenglicol	Compuesto asfixiante para piojos	33,64
Fenoxietanol	Conservante	1,00
Imidazolidinil urea	Conservante	0,05
Agua	Excipiente	40,00
4-terpineol	Antioxidante activo	0,10
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Aromatizante	0,99
Hidróxido sódico (solución 0,18)	Ajustador de pH	0,10

Componentes (denom INCI)	Función	Eficacia, %
Ácido láctico	Ajustador de pH	0,12
Butano	Gas propulsor	6,00
Propano	Gas propulsor	1,00
Isobutano	Gas propulsor	4,00
		100,00

Ejemplo 6

5 Se ensayó una composición en forma de loción según el ejemplo 1 para evaluar la actividad adulticida y la ovicida *in vitro* en un grupo de piojos que pertenecen a *Pediculus humanus capitis*. Con esta finalidad, los adultos y los huevos (liendres) que pertenecen a la prueba de microorganismos se quitaron del huésped natural (escolares) y se trataron con la sustancia a examen, como tal, para simular las condiciones de uso del producto. Como material comparativo, se utilizaron dos productos principales análogos en el mercado, de los cuales uno está basado en sustancias naturales (Paranix®) y el otro basado en permetrinas (Milice®, referencia positiva). El producto ensayado demostró ser eficaz en eliminar de manera eficaz (mortalidad > 90%) los adultos ya tratados una hora después de la exposición del organismo de ensayo a la loción. El producto ensayado resultó ser también eficaz para eliminar de manera eficaz (mortalidad > 65%) los huevos tratados 12 días después de la exposición del parásito de la prueba a la loción a examen. En vista de los resultados de la prueba de eficacia *in vitro* en: *Pediculus humanus capitis*, es posible clasificar la composición ensayada como pediculicida con respecto tanto a los adultos (adulticidas) como a los huevos (ovicida). Se utilizó en la prueba *Pediculus humanus capitis*, microorganismo parásito obligado que, para sobrevivir, se alimenta de sangre humana y prefiere las condiciones ambientales de temperatura y humedad que se encuentran en el cuero cabelludo.

20 Varios estudios efectuados actualmente en todo el mundo demuestran cómo algunas cepas de este parásito están desarrollando una considerable resistencia a los biocidas y cómo, por tanto, es necesario probar no sólo formulaciones nuevas, sino también los productos que ya están en el mercado para evaluar su eficacia.

25 Para efectuar la experimentación *in vitro*, *Pediculus humanus capitis* extraídos de personas infestadas y no tratados previamente con otros productos pediculicidas, se utiliza como sistema de prueba. La elección del piojo que infesta el cuero cabelludo de la persona se realizó teniendo en cuenta el hecho de que se estaba probando un producto específico para este tipo de insecto.

30 La evaluación independiente de la eficacia ovicida está vinculada al hecho de que los huevos de *Pediculus humanus capitis* son generalmente más difíciles de eliminar y, normalmente, requieren un segundo tratamiento después de unos pocos días para ser eliminado por completo, lo que también explica porqué en la prueba, los criterios de eficacia para la actividad ovicida son menos severos con respecto a los de la actividad adulticida, para los que se requiere una eficacia > 90%. La prueba se llevó a cabo en las condiciones de uso de la OMS.

Referencias bibliográficas

- 35
1. Standard Test Method for Determining the Effectiveness of Liquid, Gel, Cream, or Shampoo insecticides Against Adult Human Lice. Designation ASTM: E938 - 05
 - 40 2. Standard Test Method for Determining the Effectiveness of Liquid, Gel, Cream, or Shampoo insecticides Against Adult Louse Ova. Designation ASTM: E1 517-99
 3. WHO Model Prescribing Information. Drugs Used in Parasitic Diseases, 2nd Ed., World Health Organization, Geneva
 - 45 4. Abbott, W.S., "A Method of Computing the Effectiveness of An Insecticide", 1925
 5. Box, G., Hunter, 5., "Statistics for Experimenters", Wiley-1978.

Ensayo de eficacia adulticida

50 Sistema de ensayo

55 Para la experimentación se utilizaron los siguientes microorganismos: *Pediculus humanus capitis*. Se quitaron los piojos a niños en edad escolar (4 a 11 años), después del dictamen de infestación (pediculosis) al National Health System. Un médico experto quitó los piojos y se llevaron inmediatamente al laboratorio para su estudio. Los organismos se sacaron del cabello seco utilizando peines de púas finas, se colocaron en un recipiente de plástico de 7x10 cm (en el que se registraron la fecha y la hora de la eliminación) e inmediatamente se transportaron al centro de ensayo.

Equipos y materiales

- Agua del grifo
- 5 - Agua destilada
- Incubadora regulada por termostato ($31 \pm 1^\circ\text{C}$ y $70\% \pm 10\%$ de H.R.)
- Cronómetro
- 10 - Pinzas
- Recipiente de ensayo (bandeja multipunto de plástico transparente y varilla de plástico transparente con un escudo circular)
- 15 - Aplicador cilíndrico de madera al que se sujetan los mechones infestados
- Cinta adhesiva
- 20 - Baño regulado por termostato ($31^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$)
- Vaso de precipitados (100-1.000 ml)
- Cápsulas de Petri (8,9 cm de diámetro y 1,3 cm de profundidad)
- 25 - Toallas absorbentes
- Recipientes de plástico (químicamente inertes de 7x10 cm)
- 30 - Pedazo de tela oscura (4x4 cm)
- Placa calefactora
- Cepillo de pelo de camello
- 35 - Peine de púas finas

Estructura del estudio

- 40 El estudio se llevó a cabo utilizando agua destilada como referencia negativa. La sustancia se ensayó en réplicas de 3, conteniendo cada réplica 10 insectos.

Referencia negativa

- 45 Agua destilada

Preparación de la muestra

- 50 Se vertieron 10 ml de la sustancia que se está ensayando en un vaso de precipitados de 100 ml y se colocaron en un baño regulado por termostato a $31 \pm 1^\circ\text{C}$.

Un vaso de precipitados de 1000 ml que contiene agua destilada (solución de lavado) se mantuvo en un baño con termostato regulado a $31 \pm 1^\circ\text{C}$.

- 55 Procedimiento de realización

Exposición

- 60 Se insertaron 3 réplicas de cada 10 piojos cada una en el fondo del recipiente de ensayo y los organismos se mantienen enganchados al fondo por medio de una varilla de plástico adecuado.

El recipiente de ensayo se insertó en el vaso de precipitados de 100 ml a $31^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ que contiene la sustancia pediculicida. Los organismos se dejaron en contacto con la sustancia durante un período de 15 minutos.

Lavado

El recipiente de ensayo se retiró del vaso de precipitados y el líquido restante se eliminó del recipiente de ensayo.

- 5 El recipiente de ensayo se insertó en el vaso de precipitados de 1000 ml que contiene agua destilada a $31^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y se agitó. Se retiró después de 1 minuto y los piojos se enjuagaron con cuidado bajo un chorro de agua destilada ($31^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 1 minuto. Se eliminó el exceso de agua.

Incubación

- 10 Cada réplica se transfirió sobre una pieza de tela oscura 4x4 y se insertó en una cápsula de Petri. Las cápsulas de Petri con los piojos tratados se colocaron en una incubadora regulada por termostato a $31^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $70\% \pm 5\%$ de R.H.

- 15 Para las referencias, se repitió el procedimiento, como tal, excepto por el hecho de que el producto que se está ensayando se sustituyó por agua destilada (referencia negativa).

Se evaluó la mortalidad de los piojos 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 3 horas, 6 horas y 24 horas después del final del tratamiento.

- 20 Con esta finalidad, los piojos situados en el tejido se expusieron al calor de una placa calentada a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Los piojos ya muertos o moribundos no pudieron moverse hacia la fuente de calor en los 5 minutos de la exposición al calor.

Cálculo-expresión de los resultados

Para cada resultado, se evaluó el porcentaje medio de mortalidad acumulada de la sustancia ensayada y de la referencia negativa, añadiendo la suma de los piojos ya muertos o moribundos. Este valor se corrigió mediante la fórmula de Abbot.

- 30 Mortalidad corregida = $[(\% \text{ de supervivientes en la referencia negativa}) - \text{supervivientes en la prueba}] / (\% \text{ de supervivientes en la referencia negativa}) \times 100$

Criterios de validez del ensayo

- 35 Para cada tiempo de contacto, la prueba se considerará válida si la mortalidad media acumulada de la referencia negativa es inferior a 15% y si la mortalidad media acumulada de la referencia positiva es superior al 90% a partir de 1 hora después del tratamiento.

Criterios de aceptación y eficacia

La sustancia a examen puede considerarse pediculicida si la mortalidad media corregida es igual o superior al 90% dentro de las 6 horas de tratamiento.

Resultados

La composición del ejemplo 1 mostró una eficacia adulticida igual a 93% después de 1 hora desde el final del tratamiento e igual a 100% después de 3 horas desde el final del tratamiento.

- 50 La tabla siguiente indica los datos que relacionan el porcentaje de mortalidad acumulada de los piojos tratados con los materiales comparativos y la referencia negativa.

TABLA 1: porcentaje medio de mortalidad acumulada (%) - tratamiento con la loción frente a la referencia negativa

	t0	15 min	30 min	1 h	3 h	6 h	24 h
Detergente antipiojos bifásico	0	53	80	93	100	100	100
Paranix	0	47	80	97	100	100	100
Milice (Pc)	0	60	85	100	100	100	100
Agua destilada (Nc)	0	0	0	0	0	3,3	17

- 55 Pc = referencia positiva Nc = referencia negativa

La mortalidad corregida (fórmula de Abbott) de la loción según el Ejemplo 1 demuestra que es igual a 93% después de una hora de incubación e igual a 100% después de 3 y 6 horas de incubación, satisfaciendo de este modo los

- 60 criterios de eficacia.

Además, los criterios de validez de la prueba hasta 6 h se satisfacen plenamente.

Desviaciones

5 No se observó ninguna desviación durante el estudio.

Conclusiones

10 El ensayo de eficacia *in vitro* sobre *Pediculus humanus capitis* permitió clasificar la composición en forma de loción según el Ejemplo 1 como adulticida.

Ensayo de eficacia ovicida

15 1. Sistema de ensayo

1.1 Organismos objetivo

20 Para la experimentación se utilizan los siguientes microorganismos:

Pediculus-humanus-capitis (huevos). Se sacaron los piojos de niños en edad escolar (4 a 11 años), después del dictamen de infestación (pediculosis) a la National Health System. Un médico experto sacó los piojos y los llevó inmediatamente al laboratorio para ensayos. Los organismos se sacaron junto con los mechones de cabello infestados y se colocaron en un recipiente de plástico 7x10 cm (en el que se registraron la fecha y la hora de la eliminación) e inmediatamente se transportaron al centro de ensayo.

2. Equipos y materiales

- 30 - Agua del grifo
- Agua destilada
- Incubadora regulada por termostato
- Cronómetro
- Pinzas
- Aplicador cilíndrico de madera al que se sujetan los mechones infestados
- 35 - Cinta adhesiva
- Baño regulado por termostato
- Vaso de precipitados (100-1.000 ml)
- Cápsulas de Petri (8,9 cm de diámetro y 1,3 cm de profundidad)
- Toallas absorbentes
- 40 - Recipientes de plástico (químicamente inertes de 7x10 cm)

Diseño experimental

Estructura del estudio

45 El estudio se llevó a cabo utilizando agua destilada como referencia negativa.

La sustancia se ensayó en réplicas de 3, conteniendo cada réplica 15 huevos.

50 Referencia negativa

Agua destilada

Referencia positiva

55 Preparación de la muestra de ensayo

60 ml de la sustancia que se está ensayando se vierten en un vaso de precipitados de 100 ml y se colocan en un baño regulado por termostato a $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Un vaso de precipitados de 1000 que contiene agua destilada (solución de lavado) se mantuvo en un baño termostato regulado a $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Forma de realización del ensayo

65 Cada réplica de 10 huevos consistente en 1 a 3 mechones y que contiene 10 huevos se sujetó a una varilla-aplicadora de madera por medio de una cinta adhesiva. Las muestras de la sustancia que se está ensayando se llevaron a $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ en baño regulado por termostato. El aplicador con los huevos se insertó en el vaso de

ES 2 424 321 T3

precipitados de 100 ml a 32°C que contiene la sustancia ovicida. Los organismos se mantuvieron en contacto con la sustancia durante un período de 15 minutos (sobre la base de las indicaciones del cliente) y el aplicador se retiró a continuación del vaso de precipitados.

- 5 Los mechones se lavaron en 900 ml de agua del grifo a 31°C ± 1°C y se agitó mediante un movimiento de "arriba a abajo" del aplicador para simular enjuague en vivo.

Después de 1 minuto los huevos se enjuagaron con delicadeza en el vaso de precipitados de 1000 ml durante un minuto y se eliminó el exceso de agua.

- 10 Los mechones con los huevos unidos se colocaron en una cápsula de Petri y se incubaron a 31,7° ± 0,5°C y 60% ± 10% de H.R.

- 15 Para las referencias, se repitió el procedimiento, como tal, excepto por el hecho de que el producto que se está ensayando se sustituyó por agua destilada (referencia negativa).

Observaciones

- 20 Cuando todos los huevos de la referencia negativa se habían abierto (después de aproximadamente 12 días), las réplicas se examinaron al microscopio (30x) para determinar el número de huevos que habían se abierto regularmente y los que, por el contrario, no. Estos últimos se clasificaron como organismos muertos.

Los huevos parcialmente abiertas (emergentes) se clasifican como organismos muertos.

- 25 Cálculo y expresión de los resultados

Evaluar el porcentaje medio de mortalidad de la sustancia ensayada y la referencia negativa, añadiendo los huevos sin abrir o parcialmente abiertos y corregir los valores de mortalidad de la referencia positiva y de la sustancia a examen utilizando la fórmula de Abbott.

- 30 Mortalidad corregida = [(% de supervivientes en la referencia negativa) - Supervivientes en el ensayo] J/ (% de supervivientes en la referencia negativa) x 100

Criterios de validez del ensayo

- 35 La prueba se puede considerar válida si, al final del tratamiento, el mortalidad acumulada media para la referencia negativa es menor de 15% y para la referencia positiva es mayor que 65%.

Criterios de aceptación y eficacia

- 40 La sustancia a examen se puede considerar un ovicida si la mortalidad corregida media es igual o superior al 65%.

Resultados

- 45 La loción del Ejemplo 1 demostró una eficacia ovicida > 65% 12 días después del final del tratamiento. Además, la sustancia que se está examinando, en las condiciones experimentales adoptadas, demostró tener una eficacia ovicida mayor con respecto a la de los materiales comparativos principales en el mercado. La Tabla 2 a continuación indica los datos relativos al porcentaje de mortalidad acumulado de los huevos tratados frente a los materiales de comparación y la referencia negativa:

- 50 Tabla 2: porcentaje medio de mortalidad acumulada (%) corregido después del tratamiento con la loción frente a la referencia negativa y al material comparativo

Detergente	86%
Paranix	74,8%
Milice (pc)	78,5%
Agua destilada (nc)	7,0%

- 55 pc = referencia positiva
nc = referencia negativa

- 60 La mortalidad corregida (fórmula de Abbott) de la loción antiopijos del Ejemplo 1 demuestra ser superior a 65% tras 12 días de incubación: los criterios de eficacia son por consiguiente satisfactorios. Los criterios de validez del ensayo también demuestran ser totalmente satisfactorios, en todos los tiempos de observación, la referencia negativa tiene un porcentaje de mortalidad acumulada <15% y la referencia positiva tiene un porcentaje de mortalidad acumulada superior al 65%.

Desviaciones

No se observó ninguna desviación durante este estudio.

5

Conclusiones

La prueba de eficacia *in vitro* sobre liendres de *Pediculus humanus capitis* permitió clasificar la loción según el Ejemplo 1 como OVICIDA.

10

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla siguiente.

Tabla 3

	Producto probado	Nº de liendres probadas	Número de liendres abiertas/muertas después de 12 días						
			Liendres vivas		Liendres sin vida				
			Abiertas	Sin abrir	Parcialmente abiertas				
Detergente bifásico	réplica 1	10	2	5	3				
	réplica 2	10	2	7	1				
	réplica 3	10	0	8	2				
	promedio	10	1,3	6,7	2				
Paranix	réplica 1	10	2	6	2				
	réplica 2	10	3	7	0				
	réplica 3	10	2	6	2				
	promedio	10	2,3	6,3	1,3				
Milice	réplica 1	10	2	6	2				
	réplica 2	10	2	6	2				
	réplica 3	10	2	6	2				
	promedio	10	2	6	2				
	Producto probado	Nº de liendres probadas	Número de piojos muertos después de						
			15 min.	30 min.	1 h	3 h	6 h	--	24 h
Referencia negativa	réplica 1	10	0	0	0	0	1	--	2
	réplica 2	10	0	0	0	0	0	--	1
	réplica 3	10	0	0	0	0	0	--	2
	promedio	10	0	0	0	0	0,3	--	1,7

15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de dicaprato-dicaprilato de butilenglicol para la producción de una composición destinada al tratamiento externo de infestaciones por parte de ectoparásitos, en la que dicho dicaprato-dicaprilato de butilenglicol está presente en una cantidad $\geq 20\%$ en peso, ventajosamente $\geq 40\%$ en peso en dicha composición.
- 10 2. Utilización según la reivindicación 1, en la que dicha composición es un recurso médico o de ayuda médica-quirúrgica para uso humano/veterinario o una composición cosmética para el tratamiento de piojo y/o liendres.
- 10 3. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que dicha composición está en forma líquida.
4. Utilización según la reivindicación 3, en la que dicha composición está en forma de loción bifásica agua/aceite o aceite/agua.
- 15 5. Utilización según la reivindicación 3, en la que dicha composición está en la forma de un champú o espuma.
6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que dicha composición está en forma sólida o semisólida.
- 20 7. Utilización según la reivindicación 6, en la que dicha composición está en la forma de una crema o pasta para el cabello.
8. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicha composición comprende un principio activo adicional contra la pediculosis seleccionado de entre el grupo constituido por: anetol, terpineol, aceite de nim, urea, aceite de melaleuca, aceite de canela, aceite de andiroba y mezclas de los mismos.
- 25 9. Composición contra la pediculosis, caracterizada porque comprende dicaprato-dicaprilato de butilenglicol en una cantidad eficaz desde un punto de vista antiparasitario y un vehículo fisiológicamente aceptable, estando dicho dicaprato-dicaprilato de butilenglicol presente en una cantidad $\geq 20\%$ en peso, ventajosamente $\geq 40\%$ en peso.
- 30 10. Composición según la reivindicación 9, caracterizada porque está en forma líquida seleccionada de entre una loción bifásica agua/aceite o aceite/agua, espuma, champú.
- 35 11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, caracterizada porque comprende por lo menos un principio activo adicional contra la pediculosis seleccionado de entre aceite de melaleuca, anetol, terpineol, aceite de nim, aceite/esencia de canela, urea, aceite de andiroba y/o mezclas de los mismos.
- 40 12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, caracterizado porque además comprende un potenciador de penetración seleccionado de entre pentilenglicol, etilhexilglicerina, agentes emulsionantes con una cadena oleílica y mezclas de los mismos.
- 45 13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12 en forma de loción bifásica que tiene la siguiente composición:

Dicaprato-dicaprilato de butilenglicol	48,30 %
Anetol	12,00 %
Etilhexilglicerina	9,99 %
Pentilenglicol	5,40 %
Urea	5,00 %
Oleato de sorbitán	5,00 %
Agua	4,78 %
Polisorbato 80	4,01 %
Éter estearílico PPG-15	1,35 %
4-terpineol	0,99 %
Aceite de semillas de <i>Melia azadirachta</i> (árbol de nim)	0,99 %
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	0,99 %
Aceite de semillas de <i>Carapa guianensis</i> (Andiroba)	0,99
Arginina	0,10
Ácido láctico	0,12
	100,00