

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 019**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4196 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.04.2008 PCT/EP2008/002830**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2008 WO08128654**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2008 E 08735140 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016 EP 2136802**

54 Título: **Uso de fungicidas para el tratamiento de micosis en peces**

30 Prioridad:

20.04.2007 EP 07106647

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

28.10.2016

73 Titular/es:

**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH
(100.0%)
Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**HÄUSER-HAHN, ISOLDE;
STENZEL, KLAUS y
WACHENDORFF-NEUMANN, ULRIKE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 588 019 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

Uso de fungicidas para el tratamiento de micosis en peces

5 La invención se refiere al uso de al menos un fungicida seleccionado del siguiente grupo fluopicolida, tebuconazol y zoxamida para la preparación de un agente contra micosis en peces e invertebrados y todos sus estadios de desarrollo causada por hongos de los géneros *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*.

10 Debido a la necesidad mundial cada vez mayor de peces, estos se mantienen cada vez más en acuicultura. A modo de ejemplo, pero no restrictivamente, son de mencionar las siguientes especies de peces relevantes para la acuicultura: siluro, trucha, salmón, *Pangasius* y perca. Debido a la proximidad de los peces entre sí, las acuiculturas de este tipo son extremadamente susceptibles a los patógenos, especialmente hongos patógenos. Los hongos patógenos que infestan tanto a los peces como a los huevos de pez pertenecen a los siguientes géneros: *Saprolegnia hypogyna*, *S. ferax*, *S. australis*, *S. declina*, *S. longicaulis*, *S. mixta*, *S. parasitica*, *S. sporangium*, *S. variabilis*, *Aphanomyces invadans* y *Achlya flagellata* spp.

15 Debido a la micosis se producen grandes pérdidas económicas en la cría y el mantenimiento de peces útiles y ornamentales, así como de cangrejos y otros invertebrados (Bruno, D. W., Wood, B. P., 1999: *Saprolegnia* and other Oomycetes. En: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (ed): *Fish Diseases and Disorder*. Vol. 3 Viral, Bacterial and fungal infections. CAB International, Wallingford).

Sin embargo, hasta ahora solo se conocen algunas sustancias que son adecuadas para combatir la micosis en peces.

20 En el pasado, el verde de malaquita se usó frecuentemente como principio activo para la profilaxis y la terapia de micosis. Debido a sus propiedades cancerígenas, mutagénicas y teratogénicas, esta sustancia solo es tolerada en Alemania, sin embargo, para el tratamiento de huevos de pez, pero no está autorizada para la terapia de peces (Meyer, F. P.; Jorgenson. T.A., 1983: *Teratological and other effects of malachite green on development of rainbow trout and rabbits*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 112, 818-824, (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, 2002). Como el verde de malaquita es un colorante, puede conducir a cambio de color del agua y de los peces tratados. Además, el verde de malaquita posee una semivida larga, de manera que puede producir residuos en el pescado que va a consumirse posteriormente (D. J. Alderman en *Journal of Fish Diseases* 8. (1985) 289-298).

30 Actualmente se utiliza además formalina, que, aunque tiene cierta acción fungicida contra hongos patógenos, en la aplicación práctica no es satisfactoria y además causa problemas de seguridad en el trabajo, especialmente en sistemas cerrados.

En el documento DE 10237740 se describe el uso de sustancias húmicas naturales y sintéticas en la cría de peces.

Por el documento DE 2 037 610 ya se sabe que ciertos bencilimidazoles actúan *in vitro* contra *Saprolegnia parasitica*. Pero no se menciona nada sobre una posible aplicación en la cría de peces.

35 En el documento CN 1472448 se describen formulaciones de hierbas fungicidamente activas para su uso como agentes contra saprolegniasis en peces, gambas y cangrejos. Las formulaciones contienen *Galla chinensis* 40-70, *Cortex Phellodendri* (*Phellodendron chinense* y/o *Phellodendron amurense*) 10-30, corteza de *Paeonia suffruticosa* 10-30 y *Houttuynia cordata* 10-30 % en peso.

También pueden utilizarse extractos de té que contienen diversos polifenoles (documento JP 3698745).

40 En el documento WO 04 002574 se describen mezclas de enzimas que contienen glucanasas para la profilaxis y la terapia de micosis en peces y estadios de desarrollo de los mismos (huevos).

En el documento WO 98 05311 se usa bromopol (bromo-2-nitropropano-1,3-diol) para combatir distintas enfermedades de organismos acuáticos, especialmente salmón y sus huevos.

45 Además, se conoce el uso de dióxido de cloro (documento WO 95 18534), 3-fenoxicarbonilmetoxi-1,1,2-triyodo-1-propeno (documento JP 57116012) y 1-óxido de 2-piridinotiol (documento JP 47019191) contra enfermedades por *Saprolegnia*.

Por el documento WO 97 006690 se conoce el uso de kresoxim-metilo para combatir micosis en peces.

50 Sin embargo, por una parte, la eficacia de estas sustancias, especialmente a dosis más bajas, no es frecuentemente suficiente. Por otra parte, debido a las propiedades tóxicas para los peces, puede producirse limitación de la compatibilidad del tratamiento, de manera que una dosis eficaz no puede utilizarse adecuadamente. Además, es difícil una dosificación exacta, especialmente de extractos de hierbas o de té o mezclas de enzimas, debido a sus contenidos variables de principios activos. Además, la aplicación de estos preparados solo es adecuada para especies y enfermedades de peces individuales. Además, la aplicación de preparados frecuentemente está limitada a un periodo de tiempo largo antes de la pesca ('cosecha') debido a sus propiedades tóxicas, ya que son necesarios

largos tiempos de espera entre la aplicación y el consumo de los peces.

5 Como los requisitos ecológicos y económicos a los antimicóticos modernos están continuamente aumentando, por ejemplo, en lo que respecta al espectro de acción, toxicidad, selectividad, cantidad de aplicación, formación de residuos y capacidad de producción favorable, y además, por ejemplo, también podrían aparecer problemas con resistencias, existe el objetivo continuo de desarrollar nuevos antimicóticos que presenten ventajas, al menos en sectores, en comparación con los conocidos.

10 Además, estas sustancias tienen efectos secundarios tóxicos. El uso de, por ejemplo, formalina, cloramina T y oxalato de verde de malaquita está asociado frecuentemente a una serie de efectos secundarios y riesgos, así, por ejemplo, presenta potencial cancerígeno, mutagénico, de daño cromosómico, teratogénico, actúa de veneno respiratorio, además aparecen secuelas histopatológicas y fallos multiorgánicos, así como alteraciones significativas de los parámetros bioquímicos de la sangre (Sanchez y col., 1998; Srivastava y col., 2004; de Dissertation St. Heidrich, 2005).

15 Además de los desinfectantes puros, también están en uso otras sustancias. A éstos pertenecen el ácido acético (para tratamientos por inmersión), cloruro de sodio y de calcio (como tratamientos osmorreguladores), carbonato de sodio y dióxido de carbono (para la anestesia de peces), así como sulfito de sodio (para mejorar la puesta de huevos) y yoduro de povidona (para la desinfección de la superficie de huevos de peces).

20 Los motivos de las desventajas de los profilácticos y terapéuticos convencionales resultan de su amplia utilización a largo plazo y parcialmente imprudente, por ejemplo, de antibióticos, quimioterapéuticos, así como colorantes de trifenilo, entre otros principios activos, para la eliminación de enfermedades bacterianas, parasíticas y relacionadas con el medioambiente, así como para el aumento del rendimiento. De esta utilización se desarrollaron en parte situaciones de resistencia desfavorables para el tratamiento de enfermedades en el animal y el hombre. Además, la utilización de agentes convencionales está frecuentemente asociada a fuertes efectos secundarios, riesgos y daños medioambientales.

25 Por consiguiente, en el campo de la acuicultura existe una elevada necesidad de agentes eficaces que controlen patógenos que reduzcan la productividad de la producción de peces comerciales. En el caso de aparición de enfermedades de los peces, una intervención temprana con carácter predominantemente profiláctico, así como una evitación y alivio de los factores inductores de la enfermedad, desempeña una función incluso mayor. Por este motivo, la búsqueda de posibilidades de tratamiento alternativas tiene una excelente importancia. Los agentes que pueden utilizarse deberán controlar un amplio espectro de patógenos y cumplir las normas de seguridad existentes.

30 La presente invención satisface estos criterios y proporciona otras ventajas.

Los fungicidas usados en el procedimiento según la invención ya son conocidos como principios activos agroquímicos (véase, por ejemplo, Pesticide Manual, 13ª edición).

35 Se encontró ahora sorprendentemente que fungicidas seleccionados del grupo fluopicolida, tebuconazol y zoxamida son especialmente adecuados para la preparación de un agente contra micosis en peces e invertebrados y todos sus estadios de desarrollo, causada por hongos de los géneros *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*.

El uso de los fungicidas mencionados en el tratamiento presenta, en comparación con las sustancias o procedimientos de tratamiento conocidos por el estado de la técnica, las siguientes ventajas: muestran una buena eficacia y no se acumulan en una cantidad no deseada en el organismo del pez, tienen propiedades ecológicas y otras propiedades toxicológicas favorables y no muestran efectos inaceptables sobre las biocenosis.

40 La invención se refiere, por tanto, al uso de al menos un fungicida seleccionado del siguiente grupo fluopicolida, tebuconazol y zoxamida para la preparación de un agente contra micosis en peces e invertebrados y todos sus estadios de desarrollo, causada por hongos de los géneros *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*.

45 Las enfermedades de los peces desempeñan una función en la cría de peces y acuicultura, en la acuarística y en las poblaciones de peces salvajes. A este respecto pueden distinguirse distintos tipos de enfermedades, como enfermedades hereditarias, enfermedades infecciosas y parasíticas, lesiones, daños debidos al agua y daños por factores de estrés en las condiciones de mantenimiento. Entre las capacidades de defensa, los patógenos de enfermedad y las condiciones de vida prevalece una compleja interrelación que finalmente decide sobre el comienzo de las enfermedades infecciosas. Un gran número de las frecuentes enfermedades de los peces son causadas por la infestación de parásitos. Los parásitos también se responsabilizan de aproximadamente el 50 por ciento de los casos de muerte en animales jóvenes en la acuarística. Dependiendo del tipo de patógeno, la infestación por parásitos puede tener lugar lentamente o rápidamente y ocuparse de que de muchos a todos los animales de una balsa estén afectados por enfermedades. Hongos, bacterias y virus también pueden causar enfermedades en los peces.

55 Las enfermedades causadas por hongos se llaman micosis. A este respecto también puede tratarse de infecciones secundarias, es decir, que antes de la micosis otras enfermedades ya habían infestado al pez o la balsa. Los hongos también pueden vivir principalmente parasíticamente. Como los hongos también disponen de un límite acotado, las micosis que han penetrado en la piel solo pueden tratarse con dificultad.

La *Saprolegnia* pertenece a la clase de los oomicetos. Los peces enfermos muestran los siguientes síntomas: presentan infecciones fúngicas blanco-grisáceas, tipo torunda de algodón, blancas sobre su superficie. Estos hongos pueden entonces colonizar frecuentemente el pez si la capa mucosa protectora o la epidermis está dañada. Tales proliferaciones fúngicas pueden ser el resultado de heridas por picaduras o mordeduras por otros organismos o por lesiones mecánicas, pero también ser causadas por efectos de la temperatura o aguas residuales. También están en peligro los huevos de los peces. El hongo se produce naturalmente en todas las aguas dulces y ataca a peces debilitados. Frecuentemente se muestra que truchas macho especialmente ancianas están fuertemente afectadas. La *Saprolegnia* es tanto un parásito débil, que aparece secundariamente, como también un parásito primario que puede afectar directamente a los peces y sus huevos. Por lo demás, puede afectar a todos los tipos de peces.

Es objetivo de la invención demostrar campos de aplicación en la evitación y el tratamiento de daños a peces que se producen en la pesca, transporte y mantenimiento, para mejorar los resultados en la cría de peces, así como en el tratamiento de huevos y para garantizar una operación sin problemas de instalaciones en la acuicultura y la acuarística.

Los fungicidas pueden presentarse tanto en forma pura como también como mezclas de distintas formas isoméricas posibles, especialmente de estereoisómeros, como E y Z, treo y eritro, así como isómeros ópticos, como isómeros R y S o atropisómeros, pero dado el caso también de tautómeros. La invención comprende tanto los isómeros puros como también sus mezclas.

Dependiendo del tipo de los sustituyentes anteriormente definidos, los fungicidas anteriormente citados presentan propiedades ácidas o básicas y pueden formar sales, dado el caso también sales internas. Si los fungicidas llevan grupos hidroxilo, carboxilo u otros grupos inductores de propiedades ácidas, entonces estos compuestos pueden hacerse reaccionar con bases para dar sales. Bases adecuadas son, por ejemplo, hidróxidos, carbonatos, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos y alcalinotérreos, especialmente los de sodio, potasio, magnesio y calcio, además de amoniaco, aminas primarias, secundarias y terciarias con restos alquilo (C₁-C₄), mono-, di- y trialcanolaminas de alcoholes (C₁-C₄), colina, así como clorocolina. Si los fungicidas llevan grupos amino, alquilamino u otros grupos inductores de propiedades básicas, entonces estos compuestos pueden hacerse reaccionar con ácidos para dar sales. Ácidos adecuados son, por ejemplo, ácidos minerales, como clorhídrico, sulfúrico y fosfórico, ácidos orgánicos, como ácido acético o ácido oxálico, y sales ácidas, como NaHSO₄ y KHSO₄. Las sales obtenibles de esta forma también presentan propiedades fungicidas.

Los fungicidas que van a usarse según la invención se mencionan anteriormente. Por ejemplo, pero no de forma limitante, son de mencionar los siguientes representantes de los grupos de principios activos individuales.

1) Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos: por ejemplo, benalaxilo, benalaxilo-M, bupirimato, clozilacon, dimetirimol, etirimol, furalaxilo, himexazol, mefenoxam, metalaxilo, metalaxilo-M, ofurace, oxadixilo, ácido oxolinico;

2) Inhibidores de la mitosis y división celular: por ejemplo, benomilo, carbendazim, clorofenazol, dietofencarb, etaboxam, fuberidazol, pencicuron, profenofos, tiabendazol, tiofanato, tiofanato-metilo, zoxamida, 5-cloro-6-(2,4,6-trifluorofenil)-7-(4-metilpiperidin-1-il)[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina;

3) Inhibidores de la respiración (inhibidores de la cadena respiratoria):

3.1) inhibidores del complejo I de la cadena respiratoria: por ejemplo, diflumetorim;

3.2) Inhibidores del complejo II de la cadena respiratoria: por ejemplo, 2-cloro-N-(4'-prop-1-in-1-ilbifenil-2-il)-nicotinamida, 2-cloro-N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-nicotinamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-(4'-prop-1-in-1-ilbifenil-2-il)-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[(9R)-9-isopropil-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[(9S)-9-isopropil-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[2-(3,3-dimetilbutil)fenil]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 5-fluoro-1,3-dimetil-N-(4'-prop-1-in-1-ilbifenil-2-il)-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[2-(1,3-dimetilbutil)fenil]-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, bixafeno, boscalid, carboxin, fenfuram, fluopiram, flutolanilo, furametpir, furmeciclox, mepronilo, N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-{2-[1,1'-bi(ciclopropil)-2-il]fenil}-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, oxicarboxin, pentiopirad, tifulzamida;

4) Desacopladores: por ejemplo, dinocap, fluazinam, meptildinocap;

5) Inhibidores de la producción de ATP: por ejemplo, acetato de fentina, cloruro de fentina, hidróxido de fentina, siltiofam;

6) Inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos y proteínas: por ejemplo, andoprim, blasticidina-S, ciprodinilo, kasugamicina, clorhidrato de kasugamicina hidratado, mepanipirim, pirimetanilo;

7) Inhibidores de la transducción de señales: por ejemplo, fenciclonilo, fludioxonilo, quinoxifeno;

55

8) Inhibidores de la síntesis de lípidos y membranas: por ejemplo, bifenilo, clozolinato, edifenfos, etridiazol, iodocarb, iprobenfos, iprodiona, isoprotilano, procimidona, propamocarb, clorhidrato de propamocarb, pirazofos, tolclofos-metilo, vinclozolina;

9) Inhibidores de la biosíntesis del ergosterol: por ejemplo, aldimorf, azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, diclobutrazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol-M, dodemorf, acetato de dodemorf, epoxiconazol, etaconazol, fenarimol, fenbuconazol, fenhexamida, fenpropidina, fenpropimorf, fluquinconazol, flurprimidol, flusilazol, flutriafol, furconazol, furconazol-cis, hexaconazol, imazalilo, sulfato de imazalilo, imibenconazol, ipconazol, metconazol, 1-(2,2-dimetil-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-1H-imidazol-5-carboxilato de metilo, miclobutanilo, naftifina, N-etil-N-metil-N'-(2-metil-5-(difluorometil)-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil)-imidoformamida, N-etil-N-metil-N'-(2-metil-5-(trifluorometil)-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil)-imidoformamida, nuarimol, oxpoconazol, O-{1-[(4-metoxifenoxi)metil]-2,2-dimetilpropil}1H-imidazol-1-carbotioato, paclobutrazol, pefurazoato, penconazol, piperalina, procloraz, propiconazol, protioconazol, piributicarb, pirifenox, quinconazol, simeconazol, espiroxamina, tebuconazol, terbinafina, tetraconazol, triadimefon, triadimenol, tridemorf, triflumizol, triforina, triticonazol, uniconazol, viniconazol, voriconazol, 1-(4-clorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)cicloheptanol;

10) Inhibidores de la síntesis de la pared celular: por ejemplo, bentiavalicarb, dimetomorf, flumorf, iprovalicarb, mandipropamida, N-[2-(4-{[3-(4-clorofenil)prop-2-in-1-il]oxi}-3-metoxifenil)etil]-N-2-(metilsulfonil)valinamida, polioxinas, polioxorim, validamicina A, valifenal;

11) Inhibidores de la biosíntesis de melanina: por ejemplo, carpropamida, diclocimet, fenoxanilo, ftalida, piroquilon, triciclazol;

12) Inductores de resistencia: por ejemplo, acibenzolar-S-metilo, probenazol, tiadnilo;

13) Compuestos con actividad multisio: por ejemplo, mezcla de Burdeos, captafol, captan, clorotalonilo, hidróxido de cobre, naftenato de cobre, óxido de cobre, oxiclورو de cobre, sulfato de cobre, diclofluanida, ditianona, dodina, base libre de dodina, ferbam, fluorofolpet, folpet, guazatina, acetato de guazatina, iminocadina, albesilato de iminocadina, triacetato de iminocadina, mancobre, mancozeb, maneb, metiram, metiram zinc, oxina-cobre, propineb, preparaciones de sulfuro y de azufre como, por ejemplo, polisulfuro de calcio, tiram, toliifluanid, zineb, ziram;

14) Un compuesto de la siguiente lista: 2,3,5,6-tetracloro-4-(metilsulfonil)piridina, 2,3-dibutil-6-cloro-tieno[2,3-d]pirimidin-4(3H)ona, 2-butoxi-6-yodo-3-propil-benzopiran-4-ona, 2-cloro-N-(2,3-dihidro-1,1,3-trimetil-1H-inden-4-il)-3-piridincarboxamida, 3,4,5-tricloro-piridin-2,6-dicarbonitrilo, 3-[5-(4-clorofenil)-2,3-dimetilisoxazolidin-3-il]piridina, sulfato de 8-hidroxiquinolina, bentiazol, betoxazin, capsimicina, carvona, quinometionato, cufraneb, ciflufenamida, cimoxanilo, ciprosulfamida, dazomet, debacarb, diclorofeno, diclomezina, dicloran, difenzoquat, metilsulfato de difenzoquat, difenilamina, ferimzona, flumetover, fluopicolida, fluoroimida, flusulfamida, fosetilo-Al, fosetilo-calcio, fosetilo-sodio, hexaclorobenceno, irumamicina, isotianilo, metasulfocarb, isotiocianato de metilo, metrafenona, mildiomicina, N-(4-cloro-2-nitrofenil)-N-etil-4-metilbencenosulfonamida, N-(4-clorobencil)-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanamida, N-(6-metoxi-3-piridinil)-ciclopropanocarboxamida, N-[(4-clorofenil)(ciano)metil]-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)-fenil]-propanamida, N-[(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)metil]-2,4-dicloronicotinamida, N-[1-(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)etil]-2,4-dicloronicotinamida, N-[1-(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)etil]-2-fluoro-4-iodonicotinamida, natamicina, dimetilditiocarbamato de níquel, nitrotal-isopropilo, octilina, oxifentiina, pentaclorofenol y sales, ácido fosforoso y sus sales, propamocarb-fosetilo, propanosina-sodio, proquinazid, pirrolnitrina, quintozeno, S-alil-5-amino-2-isopropil-4-(2-metilfenil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioato, tecloftalam, tecnazeno, triazóxido, triclamida, zarilamida.

Además, se prefieren especialmente compuestos seleccionados del siguiente grupo:

fluopicolida y tebuconazol.

En los procedimientos, usos y agentes según la invención pueden seleccionarse tanto fungicidas individuales como varios en combinación.

Según la invención, los fungicidas se añaden al agua de instalaciones de acuicultura, por ejemplo, en instalaciones de eclosión, estanques de cría, tanques de cría, piscinas redondas, balsas de cebado, acuarios, aguas naturales para pesca deportiva y pisciculturas marinas y por su acción se causa la inhibición del crecimiento, o la destrucción de hongos patógenos. Las instalaciones de acuicultura en este sentido son dispositivos que sirven para la cría de peces o invertebrados en aguas dulces, salinas o saladas. Los fungicidas se añaden al agua. La dosis se basa en la condición (carga orgánica) del agua en la instalación de acuicultura, la actividad del fungicida y el estadio de desarrollo de los peces que va a tratarse. El nivel de actividad se mantiene por la adición continua o discontinua, que suprime la micosis existente y previene la aparición de nuevas infecciones.

Las cantidades de aplicación se encuentran, dependiendo del tipo y estadio de desarrollo de los peces y del tipo de fungicida, en 0,1 µg/l a 1 g/l, preferiblemente 1 µg/l a 100 mg/l, especialmente preferiblemente 5 µl a 1 mg/l de principio activo. Mayores concentraciones son en general no necesarias, pero pueden ser útiles dependiendo del

tipo de compuesto o aplicación, especialmente en sistemas artificiales, como, por ejemplo, tanques de cría o acuarios, en el tratamiento de los estadios de huevo, larva y juvenil.

Una acción contra la micosis se logra además por el hecho de que los fungicidas no solo se utilizan libres en el medio acuoso de las instalaciones de acuicultura, sino también unidos a la superficie (membrana mucosa) de los organismos que van a protegerse o sus huevos. Esta manera de proceder debe entonces preferirse si un alto riesgo de infección hace necesario un mayor contenido de fungicida o en caso de que debido a un alto caudal de agua de la instalación de acuicultura no sea posible una dosificación continua de la mezcla de fungicida. La unión se logra por el tratamiento de los animales o sus huevos mediante una preincubación temporalmente limitada a elevadas concentraciones de fungicida, utilizándose además de la mezcla de fungicida preferiblemente sustancias que refuerzan una unión de los fungicidas.

La cantidad eficaz de un fungicida comprende a modo de ejemplo cantidades de dosificación para un pez de aproximadamente 1 µg a 10 mg/kg/día, que pueden administrarse en una dosis individual o en forma de dosis divididas individuales, como 1 a 4 veces por día. Preferiblemente, los compuestos se administran en una dosificación de menos de 10 mg/kg/día, en una dosis individual o en 2 a 4 dosis divididas.

Los principios activos pueden aplicarse directamente o mezclarse antes de la aplicación con vehículos inertes habituales. En principio son adecuados como vehículos inertes aquellas sustancias que facilitan o garantizan una distribución homogénea del principio activo en el agua o sobre la superficie (membrana mucosa) de organismos que van a protegerse o sus huevos.

Dependiendo de sus propiedades físicas y/o químicas respectivas, los principios activos pueden convertirse en las formulaciones habituales, como disoluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, espumas, pastas, gránulos, aerosoles, encapsulaciones muy finas en sustancias poliméricas y en masas de envoltura para semillas, así como formulaciones de niebla ULV fría y caliente.

Estas formulaciones se preparan de manera conocida, por ejemplo, mediante mezcla de los principios activos con diluyentes, es decir, disolventes líquidos, gases licuados a presión y/o vehículos sólidos, dado el caso usando agentes tensioactivos, es decir, emulsionantes y/o dispersantes y/o espumantes. En el caso de uso de agua como diluyente también pueden usarse, por ejemplo, disolventes orgánicos como coadyuvantes. Como disolventes líquidos se consideran esencialmente: compuestos aromáticos como xileno, tolueno o alquilnaftalenos, compuestos aromáticos clorados o hidrocarburos alifáticos clorados como clorobencenos, cloroetilenos o cloruro de metileno, hidrocarburos alifáticos como ciclohexano o parafinas, por ejemplo, fracciones de petróleo, alcoholes como butanol o glicol, así como sus éteres y ésteres, cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona o ciclohexanona, disolventes fuertemente polares como dimetilformamida y sulfóxido de dimetilo, así como agua. Por diluyentes gaseosos licuados o vehículos se indica aquellos líquidos que a temperatura normal y a presión normal son gaseosos, por ejemplo, propulsores para aerosoles como hidrocarburos halogenados, así como butano, propano, nitrógeno y dióxido de carbono. Como vehículos sólidos se consideran: por ejemplo, polvos minerales naturales como caolines, arcillas, talco, creta, cuarzo, atapulgita, montmorillonita o tierras de diatomeas y polvos minerales sintéticos como ácido silícico altamente disperso, óxido de aluminio y silicatos. Como vehículos sólidos para gránulos se consideran: por ejemplo, rocas naturales rotas y fraccionadas como calcita, piedra pómez, mármol, sepiolita, dolomita, así como gránulos sintéticos de polvos inorgánicos y orgánicos, así como gránulos de material orgánico como serrín, cáscaras de coco, mazorcas de maíz y tallos de tabaco. Como emulsionantes y/o espumantes se consideran: por ejemplo, emulsionantes no ionógenos y aniónicos como ésteres de ácidos grasos de polioxitileno, éteres de alcoholes grasos de polioxitileno, por ejemplo, alquilarilpoliglicoléteres, alquilsulfonatos, alquilsulfatos, arilsulfonatos, así como hidrolizados de proteínas. Como dispersantes se consideran: por ejemplo, lejías residuales de sulfito con lignina y metilcelulosa.

En las formulaciones pueden usarse agentes adherentes como carboximetilcelulosa, polímeros naturales y sintéticos, en polvo, granulados o con forma de látex, como goma arábiga, poli(alcohol vinílico), poli(acetato de vinilo), así como fosfolípidos naturales como cefalinas y lecitinas, y fosfolípidos sintéticos. Otros aditivos pueden ser aceites minerales y vegetales.

Pueden usarse colorantes como pigmentos inorgánicos, por ejemplo, óxido de hierro, óxido de titanio, azul de Prusia y colorantes orgánicos como colorantes de alizarina, azoicos y de ftalocianina metálica, y oligonutrientes, como sales de hierro, manganeso, boro, cobre, cobalto, molibdeno y cinc.

Las formulaciones contienen generalmente entre el 0,1 y el 95 por ciento en peso de principio activo, preferiblemente entre el 0,5 y el 90 %.

Es evidente que la dosis específica y la frecuencia de dosificación pueden variarse para determinados tipos de peces y dependiendo del estadio de desarrollo, y dependen de una pluralidad de factores, que incluyen la eficacia del compuesto específico usado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de este compuesto, la especie, la edad, el peso, el estado de salud general, el sexo y la alimentación de los peces, la naturaleza y el momento de administración, la tasa de eliminación y la gravedad del estado particular.

Por tanto, la presente invención proporciona un fármaco veterinario que comprende al menos un fungicida con el que pueden tratarse enfermedades por *Saprolegnia* u otras enfermedades de peces, en una cantidad eficaz para esto, y un vehículo farmacéuticamente tolerable o un diluyente farmacéuticamente tolerable. Las composiciones según la invención pueden contener otros agentes terapéuticos, como se describe más adelante, y pueden formularse, por ejemplo, usando vehículos sólidos o diluyentes sólidos o líquidos, como aditivos farmacéuticos de un tipo que es adecuado para la administración deseada (por ejemplo, excipientes, aglutinantes, conservantes, estabilizadores, aromatizantes, etc.) según técnicas que son muy conocidas en el campo de la galénica farmacéutica o demandadas por la práctica farmacéutica aceptada.

Los fungicidas eficaces anteriormente descritos pueden administrarse por un agente adecuado discrecional, por ejemplo, oralmente, como en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos o polvos, sublingualmente, bucalmente, parenteralmente, como mediante técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraesternal (por ejemplo, como disoluciones o suspensiones estériles, inyectables, acuosas o no acuosas), tópicamente, como en forma de una crema o pomada o en formulaciones unitarias de dosificación que contienen vehículos o diluyentes no tóxicos farmacéuticamente tolerables. Los fungicidas pueden administrarse, por ejemplo, en una forma que es adecuada para la liberación inmediata o liberación prolongada. La liberación inmediata o la liberación prolongada pueden lograrse mediante el uso de fármacos adecuados que contienen los fungicidas eficaces anteriormente descritos o especialmente en el caso de la liberación prolongada mediante el uso de dispositivos, como implantes subcutáneos o bombas osmóticas. Los compuestos también pueden administrarse liposómicamente. Por ejemplo, la sustancia activa puede usarse en una composición como un comprimido, una cápsula, una disolución o suspensión que contiene aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg por dosificación unitaria de un compuesto o mezcla de compuestos de la lista de los fungicidas anteriormente mencionados o en una forma tópica (0,01 al 5 % en peso de fungicida, uno a cinco tratamientos por día). Puede mezclarse de manera convencional con un vehículo fisiológicamente tolerable, excipientes, aglutinantes, conservantes, estabilizadores, aromatizantes, etc., o con un vehículo tópico. Los compuestos también pueden formularse en composiciones como disoluciones o suspensiones estériles para administración parental. Pueden mezclarse aproximadamente 0,1 a 500 mg de un fungicida con un vehículo fisiológicamente tolerable, excipientes, aglutinantes, conservantes, estabilizadores, etc., en una forma de dosificación unitaria, como esto se requiere por la práctica farmacéutica aceptada. La cantidad de sustancia activa en estas composiciones o preparaciones es preferiblemente una tal en la que se obtiene una dosificación adecuada en el intervalo especificado.

Composiciones a modo de ejemplo para la administración oral comprenden suspensiones que pueden contener, por ejemplo, celulosa microcristalina para conferir masa, ácido algínico o alginato de sodio como agente de suspensión, metilcelulosa como potenciador de la viscosidad y edulcorantes o aromatizantes, como aquellos que se conocen en la técnica, y comprimidos con liberación inmediata que pueden contener, por ejemplo, celulosa microcristalina, fosfato de dicalcio, almidón, estearato de magnesio y/o lactosa y/u otros excipientes, aglutinantes, diluyentes, disgregantes, diluyentes y lubricantes, como aquellos que se conocen en la técnica. Comprimidos moldeados, comprimidos o comprimidos liofilizados son formas a modo de ejemplo que pueden usarse. Las composiciones a modo de ejemplo comprenden aquellas que formulan los principios activos fungicidas con disolventes rápidamente solubles como manitol, lactosa, sacarosa y/o ciclodextrinas. En aquellas formulaciones también pueden estar contenidos excipientes con alto peso molecular como celulosas (Avicel) o polietilenglicoles (PEG). Aquellas formulaciones también pueden contener un excipiente para ayudar en la adhesión a la membrana mucosa, como hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa de sodio (SCMC), copolímero de anhídrido de ácido maleico (por ejemplo, Gantrez) y agentes para controlar la liberación como copolímero de poliácido (por ejemplo, Carbopol 934). También pueden añadirse lubricantes, deslizantes, aromatizantes, colorantes y estabilizadores para una preparación y uso más fácil.

Los fungicidas anteriormente mencionados pueden administrarse o bien solos o en combinación con otros fungicidas adicionales. Son especialmente útiles las combinaciones de fungicidas que también presentan una acción contra la micosis en peces para asegurar correspondientemente la acción y prevenir eficazmente la formación de una resistencia del patógeno fúngico al principio activo.

La comprobación de la eficacia de los agentes de tratamientos puede confirmarse mediante ensayos de laboratorio o mediante ensayos con animales experimentales. Los ensayos de laboratorio permiten una caracterización exacta de la eficacia de los compuestos según su potencia de acción. Para esto, los principios activos se añaden a un medio de cultivo artificial y el crecimiento fúngico se determina después de un tiempo de incubación. En los ensayos con animales se tratan, por ejemplo, huevos de los peces de cría. Para esto, los agentes de tratamiento se añaden en una concentración adecuada al tanque de agua en el que se mantienen los huevos de los peces. Esto tiene lugar, por ejemplo, mediante el flujo de agua que se introduce continuamente al tanque de incubación durante la cría de peces. Después de la introducción del agente de tratamiento se detiene el intercambio de agua durante un cierto tiempo para que pueda surtir efecto el agente de tratamiento. Este tratamiento puede realizarse una vez o continuamente durante varios días o también en un ritmo diario o de varios días durante de minutos a algunas horas. Después de esto, el agente de tratamiento se elimina del tanque de incubación mediante el intercambio de agua. La eficacia y la tolerabilidad del tratamiento se determinan mediante el número huevos vivos y fúngicamente sin infectar. La eficacia y la tolerabilidad de los peces desarrollados eclosionados o animales adultos se comprueban en tanques de agua en los que los peces se crían. Para esto, al tanque de peces se introduce el agente de tratamiento. Después de la introducción del agente de tratamiento se detiene el intercambio de agua durante un cierto tiempo

para que pueda surtir efecto el agente de tratamiento. Este tratamiento puede realizarse una vez o continuamente durante varios días o también en un ritmo diario o de varios días durante de minutos a algunas horas. La eficacia y la tolerabilidad del tratamiento se determinan mediante el número de peces vivos y el grado de infección fúngica.

La invención se explica más detalladamente mediante el siguiente ejemplo.

5 **Ejemplo de realización**

Ejemplo 1: Determinación de la eficacia de sustancias contra hongos parasíticos de los peces, por ejemplo, *Saprolegnia* spp.

10 Se cultiva una cepa aislada de *Saprolegnia parasitica* (CBS 540,67, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Los Países Bajos) y se reproduce en la oscuridad a 20 °C sobre agar PD (39 g/l de concentración final). Para determinar el valor de DE₅₀, placas de agar PD se tratan con una serie de concentraciones de 0 - 0,03 - 0,1 - 0,3 - 1 - 3 - 10 - 30 ppm del fungicida que va a probarse. En cada caso, en el centro de las placas de Petri tratadas con las distintas concentraciones del fungicida se siembran trozos de inoculación con *Saprolegnia parasitica*.

Las placas se incuban durante tres días a 20 °C en la oscuridad y después de mide el crecimiento del hongo sobre la placa de agar y los valores de DE₅₀ se calculan a partir de la comparación con el control sin tratar.

15 En esta prueba, por ejemplo, los fungicidas fluopicolida, tebuconazol, 5-cloro-6-(2,4,6-trifluorofenil)-7-(4-metilpiperidin-1-il)[1,2,4]triazolo[1,5-a]-pirimidina y zoxamida muestran un valor de DE₅₀ de 5 ppm o inferior.

REIVINDICACIONES

1. Uso de al menos un fungicida seleccionado del siguiente grupo de fluopicolida, tebuconazol y zoxamida para la producción de un agente contra micosis en peces e invertebrados y todos sus estadios de desarrollo, causadas por hongos de los géneros *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces*.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, **caracterizado porque** un fungicida está seleccionado del grupo de fluopicolida y tebuconazol.