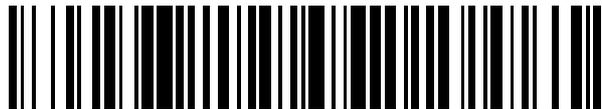


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 626 839**

51 Int. Cl.:

A01N 59/00 (2006.01)

A01N 41/04 (2006.01)

A01N 25/30 (2006.01)

A01P 15/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.08.2007 PCT/EP2007/058530**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.02.2009 WO09021557**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.08.2007 E 07802661 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.03.2017 EP 2175729**

54 Título: **Composición acuosa para inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.07.2017

73 Titular/es:

**ECOLAB INC. (100.0%)
370 North Wabasha Street
St. Paul, MN 55102, US**

72 Inventor/es:

**VERKAAR, EDWARD;
GRUNWALD, LUDGER y
KUEPPER, STEFAN**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 626 839 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 acuosa para inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados

El campo técnico de la presente invención se refiere a una composición acuosa para inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados. Un objeto adicional de la presente invención es un método para preparar la composición acuosa, y un método para inactivar coccidios esporulados y/o no esporulados aplicando la composición.

Los coccidios son parásitos formadores de esporas que infectan los tractos intestinales de animales. Los coccidios son parásitos intracelulares obligados, lo que significa que deben vivir y reproducirse dentro de una célula animal.

La enfermedad provocada por la infección por coccidios se denomina coccidiosis. Esta es una enfermedad parasitaria que se propaga de animal en animal por contacto con heces infectadas. El síntoma primario de la enfermedad es diarrea que presenta sangre en casos graves. Animales infectados más mayores son asintomáticos, lo que significa que no muestran síntomas de la enfermedad. Sin embargo, animales jóvenes o inmunocomprometidos pueden presentar síntomas graves incluyendo la muerte.

Los coccidios pueden infectar a una amplia variedad de animales, incluyendo seres humanos y ganado.

La coccidiosis puede considerarse como una enfermedad parasitaria primaria con impactos económicos significativos sobre la producción de aves de corral, cerdos y ganado vacuno. Estos impactos económicos resultan del hecho de que se necesita una medicación profiláctica en la alimentación para evitar la propagación de la coccidiosis en el ganado. Si la medicación profiláctica no es satisfactoria y las conversiones de alimentos son escasas, los efectos para un criador afectado son perjudiciales. Para la medicación profiláctica en la alimentación actualmente se usan productos coccidiostáticos o vacunas. Sin embargo, también se conoce que los parásitos coccidios se vuelven cada vez más resistentes a estos productos.

Coccidia comprende, entre otras, las familias *Eimeriidae* y *Lankesterellidae*. Los coccidios responsables de la enfermedad en el ganado son *Eimeria*, *Tyzzeria* e *Isospora*; todos géneros de los coccidios. Estos órdenes también comprenden otros patógenos que provocan enfermedad en seres humanos (*Cyclospora*, *Cryptosporidium* y *Toxoplasma*). La coccidiosis aviar la provocan principalmente las especies de *Eimeria*: *Eimeria tenella*, *necatrix*, *macima*, *brunetti*, *acervulina*, *mivati*, *praecox* y *mitis* provocan coccidiosis en pollos (pollos de engorde), *Eimeria anatis* y *danailovi* provocan enfermedad en patos, *Eimeria adenoides*, *gallopavoris*, *meleagridis*, *meleagrimitis* provocan enfermedad en pavos. Hay muchas otras especies de *Eimeria* específicamente responsables de la enfermedad en otras aves (gansos, faisanes, perdices y otros). Se encuentran especies de *Eimeria*, y provocan enfermedad, en cerdos (*Eimeria deblicchi*) y animales bovinos (*Eimeria bovis*, *zuernii*, y *ellipsoidalis*).

En todas las especies huésped mencionadas, los síntomas clínicos pueden variar. La patogenicidad depende del estado físico, la edad y el estado inmunitario del huésped. Dentro de un huésped, los niveles de patogenicidad pueden variar según la especie de *Eimeria*. En los pollos de engorde, cochinitos y terneros, los signos clínicos son predominantemente pérdida de rendimiento y FCR (razón de conversión de alimentos). *Eimeria* provocan inflamaciones necróticas del intestino que conducen a daño cecal con deposiciones con sangre, daño intestinal o muerte: de nuevo, el nivel de enteritis puede variar dentro de la gama de especies. *Eimeria tenella* provoca daño cecal grave en pollos de engorde con deposiciones con sangre. *Eimeria acervulina* provoca daño intestinal que puede conducir a mortalidad por enteritis necrótica en pollos de engorde. *Eimeria necatrix* provoca muerte súbita en pollos de engorde, etc.

Eimeria aviáres son parásitos diferenciados con ciclos vitales complejos. Generalmente, los ovocistos (huevos) experimentan esporogonia en el entorno, 24 horas tras colocar el lecho. Los ovocistos contienen cuatro esporocistos, que contienen dos esporozoítos. La maduración para dar esporozoítos completos se producirá tras la ingestión dentro de la luz intestinal tras la ingestión de agua o alimentos contaminados con lecho. El proceso de maduración dentro del intestino se potencia por tripsina, bilis y CO₂. Los esporozoítos entran, dependiendo de la especie, en células epiteliales intestinales o epiteliales de la cripta intestinal para su maduración intracelular adicional. Dentro de células huésped, los esporozoítos experimentan reproducción asexual (esquizogonia) dando como resultado merozoítos, que se liberan de la célula e infectan otras células intestinales. Los merozoítos entran en células y se diferencian para dar organismos machos (microgamontos) o hembras (macrogamontos). Los macrogamontos se liberan de células infectadas como ovocistos, que pueden fecundarse en la luz intestinal y posteriormente salir de la luz, lo que reinicia eficazmente el ciclo vital de *Eimeria*. Los periodos prelatentes pueden oscilar entre 4 y 5 días tras la infección. La producción máxima de ovocistos oscila entre 6 y 9 días tras la infección. Los efectos entéricos necróticos sólo se provocan parcialmente por el parásito protozoario. Los esporozoítos y merozoítos pueden considerarse como agujas de inoculación que hacen que otras posibles bacterias patógenas y no patógenas (*Salmonella pullorum*, *Staphylococcus albus*, *Escherichia coli*, entre otras) penetren en el tejido del intestino ciego y entren en la sangre y los órganos linfoides provocando septicemia e inflamación de órganos.

Aunque los coccidios son específicos del huésped y no todos los coccidios provocan enfermedad gastroentérica (diarrea, heces con sangre, FCR reducida, escasa producción de huevos), sigue siendo un organismo altamente contagioso que afecta a ganado mantenido en entornos cálidos, estrechos y húmedos. Dependiendo principalmente

del estado inmunitario y la especificidad de huésped, los coccidios pueden afectar a ganado: aves de corral, cerdos, conejos, seres humanos e incluso peces. La coccidiosis en aves de corral es una amenaza principal mientras que la coccidiosis en la producción intensiva de cerdos está aumentando. En pollos de engorde, pavos y sustituciones periódicas los productos coccidiostáticos en la alimentación previenen la enfermedad clínica. Un inconveniente importante de estos productos coccidiostáticos es la toxicidad tanto para animales como para seres humanos. Los productos coccidiostáticos provocan pérdida de rendimiento (pérdida de peso, producción de huevos) y conversión de alimentos reducida, dando como resultado en última instancia una pérdida económica. Los residuos también pueden presentar un posible riesgo sanitario para seres humanos, por tanto se necesita implementar estrictamente un régimen de control estricto sobre la dosificación y periodos de espera.

Un segundo inconveniente es la resistencia farmacológica cuando se usan productos anticoccidianos, y la especificidad de organismo que es un problema cuando múltiples especies han invadido el intestino. Estos fármacos pueden clasificarse en dos clases: En primer lugar están los compuestos químicos que alteran o influyen en el metabolismo de los parásitos tales como amprolio, clopidol, entre otros. En segundo lugar están los ionóforos de poliéter que alteran el transporte de iones a través de la membrana celular o perturban el equilibrio osmótico tales como monensina, salinomina, entre otros. Debido a problemas de resistencia farmacológica, se usan programas de lanzadera y de rotación. En pollos de engorde, se administran vacunas vivas atenuadas a través del agua para beber a los 7-10 días de edad. Como con los productos quimioterápicos, el uso de vacunas también tiene inconvenientes. Una dosificación uniforme puede administrar una dosis insuficiente o excesiva a animales lo cual, en el segundo caso, puede provocar enfermedad cuando se usa un tipo virulento. Además, el uso de vacunas vivas atenuadas provoca infecciones subclínicas y dispersión de ovocistos en el entorno. Algunos granjeros usan tratamiento de agua con productos coccidiocidas en la edad de máxima exposición. Dado que los ovocistos son duraderos (en condiciones favorables, pueden sobrevivir durante dos años) y persistirán en el entorno más tiempo que, por ejemplo, virus, la erradicación de la exposición completa puede ser imposible. Esto no es necesario ya que se requieren log 2 - log 3 o más ovocistos para provocar síntomas leves. Sin embargo, reducir la dosis de exposición resulta beneficioso para aumentar la inmunidad y disminuir los signos de enfermedad.

Una infección por coccidios provoca la inmunidad del averío, lo cual se entiende bien en agricultura. Sin embargo, cada especie de coccidios tiene su propia especificidad y propiedades antigénicas: como con muchos otros patógenos protozoarios, *Eimeria* puede alterar rápidamente las propiedades antigénicas y/o genéticas provocando por tanto heterogeneidades genéticas principales. Estas propiedades son una característica inherente para la supervivencia. Otro problema es la durabilidad de los ovocistos. La mayoría de los desinfectantes se vuelven inútiles debido a la estructura del ovocisto. Las paredes del ovocisto consisten en una densa capa externa de 10 nm y una capa interna de 90 nm. La primera constituye el 25% de la masa de pared total y contiene moléculas orgánicas bipolares (ácidos grasos, alcoholes grasos, fosfolípidos) y colesterol como estabilizador de fluidos. La estructura de la capa celular externa sólo permite el paso de pequeñas moléculas sin carga. La capa interna está compuesta principalmente por glicoproteínas de alto peso molecular dando como resultado una membrana global impenetrable, altamente robusta. La capa externa protectora impide eficazmente la penetración de moléculas más grandes y/o con carga, por tanto la mayor parte de los desinfectantes líquidos no serán eficaces.

El último método, probablemente el mejor, de erradicación de organismos cocoides es la gestión interna, que se basa principalmente en la prevención. Los ovocistos se transmiten a través del lecho. Por tanto, una buena gestión del lecho ayuda a reducir la exposición a organismos cocoides. Dado que los ovocistos de coccidios son ubicuos en cualquier entorno de granja y tienen un potencial de reproducción tan grande, resulta difícil mantener los animales libres de coccidios. Los ovocistos esporulan fácilmente, pero su viabilidad se reduce en el plazo de 3 semanas por altos niveles de amoníaco. Básicamente, los granjeros retiran el lecho apelmazado y dejan que se airee el gallinero durante 3 semanas y posteriormente colocan nuevo lecho libre de ovocistos antes de introducir un nuevo averío. Una limpieza exhaustiva entre averíos, cambio de ropa entre gallineros y otras medidas higiénicas disminuyen adicionalmente la posibilidad de infestación por cocoides.

Una completa erradicación de la exposición puede ser imposible y no deseable para potenciar la inmunidad del averío. Se necesitan grandes dosis de ovocistos de *Eimeria* (100 - 1000) para provocar manifestaciones clínicas. Además, los ovocistos de cocoides son robustos y resisten a la mayor parte de los desinfectantes. Un estudio ha mostrado que los siguientes productos químicos son ineficaces y, por tanto, no son adecuados para la erradicación: ácido peracético, formaldehído, hidróxido de potasio, ácido sulfúrico, dicromato de potasio, yoduro de potasio, formalina, yodóforos, ácido cresílico, hipoclorito de sodio, cloruro de benzalconio, glutaraldehído, sustancias fenólicas, compuestos de amonio cuaternario y sulfato de cobre.

El documento US 5.985.875 describe derivados de 1,2,4-triazin-3,5-diona, su producción y uso para inactivar protozoos parasitarios tales como coccidios.

El documento GB 2.108.389 describe el uso de una composición que comprende ácido alquilbencenosulfónico en aceite para el tratamiento biocida de lechos para ganado.

El documento WO 02/091832 D1 describe un sistema desinfectante de dos partes que se mezcla antes de su uso. La primera parte comprende un clorito. La segunda parte comprende un ácido débil y/o ácido fosfórico como acidulante. Una o ambas partes también contienen un alfa-olefina-sulfonato.

El documento US 4.963.287 describe disoluciones blanqueantes de clorito que contienen perfume alcalino estabilizadas con tensioactivos aniónicos, tales como alquilarilsulfonatos o n-decildifeniloxidodisulfonato de sodio, para suprimir el desarrollo de dióxido de cloro en exceso.

5 El documento JP 2004-210726 describe el uso de productos químicos basados en cloro tales como dióxido de cloro en presencia de una disolución tampón de citrato de sodio-ácido fosfórico para la inactivación de coccidios. El documento describe usar dióxido de cloro en concentraciones de entre 100 y 6.400 ppm, preferiblemente de 200 a 800 ppm.

10 El dióxido de cloro es un gas muy reactivo y tóxico. La toxicidad resulta del fuerte poder oxidante del compuesto y del hecho de que el compuesto desprende cloro y oxígeno cuando reacciona. La concentración máxima de gas dióxido de cloro gaseoso en cualquier entorno de trabajo es, según la definición de la Fundación Alemana de Investigación, no superior a 0,1 ppm.

15 Por tanto, la desventaja del método descrito en el documento JP 2004-210726 es que tienen que usarse altas concentraciones de dióxido de cloro con el fin de inactivar de manera suficiente los parásitos coccidios. Los inventores de la presente invención han realizado experimentos para reducir el límite de la concentración de dióxido de cloro en una disolución que todavía es eficaz para inactivar parásitos coccidios. Se encontró que concentraciones por debajo de 120 ppm de dióxido de cloro son ineficaces para erradicar organismos coccidios.

Por tanto, el objeto técnico de la presente invención era proporcionar una composición para la inactivación de parásitos coccidios que comprendiera menos dióxido de cloro y por tanto fuera menos tóxica para los animales y el usuario.

20 El objeto técnico de la presente invención se resuelve mediante una composición acuosa para inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados que comprende de 15 a 115 ppm de dióxido de cloro y del 0,01 al 1% en peso de un tensioactivo aniónico que puede obtenerse combinando

(a) una parte de clorito que comprende un clorito de metal alcalino, y

(b) una disolución de ácido que comprende

25 (b1) del 1 al 5% en peso de un ácido carboxílico débil y

(b2) del 2 al 10% en peso de ácido fosfórico

(c) del 10 al 25% en peso del tensioactivo aniónico que es un (alquil C₆ a C₁₈)-difeniloxidodisulfonato y/o un (alquil C₆-C₁₈)-(sulfofenoxi)bencenosulfonato,

y dilución de la mezcla con agua.

30 Los inventores de la presente invención han encontrado sorprendentemente que, cuando se mezcla una disolución acuosa que comprende dióxido de cloro con un tensioactivo aniónico que es un (alquil C₆ a C₁₈)-difeniloxidodisulfonato y/o un (alquil C₆-C₁₈)-(sulfofenoxi)bencenosulfonato, esta disolución puede inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados aunque la concentración de dióxido de cloro esté por debajo de 120 ppm en la disolución.

35 Este resultado no podía esperarse porque se sabía que sólo concentraciones superiores de dióxido de cloro por encima de 200 ppm, y preferiblemente de aproximadamente 800 ppm, inactivarían completamente parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados. Los experimentos de los inventores muestran que dióxido de cloro solo no producirá la inactivación si la concentración de dióxido de cloro en la disolución está por debajo de 120 ppm.

40 Además, los inventores también han investigado si combinaciones de dióxido de cloro con otros tensioactivos como, por ejemplo, alquilsulfonatos, óxidos de amina, polialcoholes etoxilados, compuestos de amonio cuaternario, lauril-hidroxisulfano, y alquil etersulfatos tienen un efecto en combinación con concentraciones inferiores de dióxido de cloro. Sin embargo, en estos casos se encuentra que los parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados no pueden inactivarse.

45 En una realización preferida, la composición acuosa según la invención comprende de 20 a 100 ppm de dióxido de cloro, más preferiblemente de 25 a 50 ppm de dióxido de cloro.

Se prefiere además que la composición comprenda del 0,05 al 0,5% en peso, preferiblemente del 0,1 al 0,3% en peso del tensioactivo.

50 La composición según la invención se aplica a una superficie contaminada por coccidios durante de 1 minuto a 1 hora, preferiblemente de 15 minutos a 45 minutos. La composición se aplica preferiblemente mediante pulverización sobre la superficie contaminada.

En una realización adicional preferida, la composición según la invención puede aplicarse en forma de una espuma

de modo que el usuario puede ver la superficie en la que se aplica la composición. En otra realización preferida, la composición presenta color con el mismo fin, concretamente también la identificación de la superficie en la que se aplicó la disolución.

5 Además, la invención también se refiere a un método para preparar la composición acuosa según la invención. Esto se realiza combinando una parte de clorito que comprende clorito de metal alcalino y, como segunda parte, una disolución de ácido que comprende del 1 al 5% en peso, preferiblemente del 1,5 al 3% en peso de un ácido carboxílico débil, del 2 al 10% en peso, preferiblemente del 3 al 8% en peso, y más preferiblemente del 4 al 7% en peso de ácido fosfórico, y del 10 al 25% en peso, preferiblemente del 13 al 20% en peso, y lo más preferiblemente del 15 al 18% en peso del tensioactivo aniónico, y dilución de la mezcla con agua.

10 En una realización preferida, el tensioactivo aniónico puede añadirse por separado a la parte de clorito y la disolución de ácido.

La parte de clorito que comprende el clorito de metal alcalino, que es preferiblemente un clorito de sodio, puede ser una disolución acuosa que comprende del 2 al 15% en peso de clorito de metal alcalino, preferiblemente del 5 al 10% en peso de clorito de metal alcalino.

15 La parte de clorito también puede ser un sólido que comprende clorito de metal alcalino y un relleno. El relleno es preferiblemente carbonato de sodio. Si la parte de clorito es una parte sólida, puede estar en forma de un comprimido, un gránulo o un polvo.

La disolución de ácido comprende un ácido carboxílico débil que se selecciona del grupo que consiste en ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido tartárico y ácido propiónico y mezclas de los mismos.

20 Además, la disolución de ácido comprende ácido fosfórico. La combinación de un ácido carboxílico débil y un ácido fosfórico es necesaria para desprender el dióxido de cloro de manera continua y lenta mediante reacción del clorito de metal alcalino con los ácidos.

Además, la disolución de ácido puede comprender el (alquil C₆-C₁₈)difeniloxidodisulfonato y/o un (alquil C₆-C₁₈)-(sulfofenoxi)benzenosulfonato.

25 La composición que se prepara combinando la parte de clorito y la disolución de ácido se diluye además con agua para preparar la disolución acuosa de uso para inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados. La dilución se lleva a cabo a una razón de 1:10 a 1:1000, preferiblemente de 1:50 a 1:500.

30 La composición acuosa según la invención también puede prepararse con otros métodos como, por ejemplo, otros compuestos de desprendimiento de dióxido de cloro o electrolisis de desprendimiento de dióxido de cloro en la que una corriente eléctrica dentro de un casete en el que fluye una disolución de clorito de sodio desprenderá dióxido de cloro en un entorno acuoso.

35 La disolución de ácido y/o la disolución que comprende el tensioactivo aniónico pueden comprender además aditivos como espesantes, agentes de solubilización y agentes tamponantes. Sin embargo, es importante que estos aditivos se seleccionen cuidadosamente de modo que no reaccionen con la parte de clorito de la disolución tras mezclarse la parte de clorito y la parte ácida de la disolución.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente la invención.

Ejemplos

Materiales y métodos

40 Para los experimentos se usaron ratones Balb/C hembra de 20 g. Como parásito, se usa *Eimeria papillata*, que es un coccidio específico de ratón, y por tanto adecuado para el fin de este experimento. Se preparó el medio de flotación que contenía 124,5 g de NaCl y 435,8 g de sacarido que se diluyó con agua y se llenó hasta 1 litro. Se prepararon ovocistos no esporulados recientes. Posteriormente, se infectaron los ratones Balb/C con 20.000 ovocistos esporulados. A partir del cuarto día tras la infección, se recogen excrementos de ratón recientes y se aíslan mediante flotación. Se retira el medio de flotación residual lavando tres veces con agua limpia.

45 Se incubaron ovocistos infecciosos esporulados a 25°C durante una semana. Tras la esporulación completa, los ovocistos pueden usarse adicionalmente para la infección o también pueden almacenarse a 4°C en una disolución al 2% de dicromato de potasio.

50 Se prepara una disolución de dióxido de cloro mezclando una disolución que contiene clorito de sodio y una disolución ácida. Mediante reacción se produce dióxido de cloro. La disolución comprende 120 ppm de dióxido de cloro. Mediante dilución adicional, se producen disoluciones de dióxido de cloro de 40, 20, 10, 4, 1 y 0,5 ppm que se usan inmediatamente para los experimentos.

Ejemplo 1: Incubación de ovocistos no esporulados recientes en una disolución que comprende dióxido de cloro

5 Se filtraron ovocistos de *Eimeria papillata* a partir de excrementos de ratones recientes y se incubaron durante 60 min con disolución de dióxido de cloro recién producida a concentraciones de 40, 20, 10, 4, 1, 0,5 ppm a temperatura ambiente. Tras un tiempo de incubación de 60 min, se lavaron las suspensiones de ovocistos con agua y se cultivaron para la esporulación en 1 ml de agua. Se incubaron las sondas durante una semana a 25°C. Como control se usó una muestra de ovocistos no tratados, no esporulados, que también se incubó durante una semana a 25°C. Tras siete días se comprobó si se produjo una esporulación (véase la tabla 1).

Tabla 1:

N.º	concentración de ClO ₂	tiempo de incubación	resultado
1	ninguna, control	-	esporulación completa
2	40 ppm	60 min	esporulación parcial
3	20 ppm	60 min	esporulación completa
4	10 ppm	60 min	esporulación completa
5	4 ppm	60 min	esporulación completa
6	1 ppm	60 min	esporulación completa
7	0,5 ppm	60 min	esporulación completa

10 Los resultados del experimento muestran que a concentraciones por debajo de 40 ppm se produjo una esporulación completa o parcial. Esto significa que no es posible una inactivación completa de los coccidios con dióxido de cloro sólo a concentraciones de menos de 40 ppm con un tiempo de incubación de 60 min. El ejemplo de control muestra que se produjo una esporulación completa para la muestra no tratada.

15 De la misma manera, se llevaron a cabo experimentos con la composición acuosa según la invención que comprendía dióxido de cloro y, como tensioactivo aniónico, Dofax[®] 2A1 (Dow Chemicals) que es una mezcla de un oxibis(dodecilbencenosulfonato) de disodio y una sal de dodecil(sulfofenoxi)disodio de ácido bencenosulfónico. La composición comprende entre 0,5 y 25 ppm de dióxido de cloro y el 0,2% en peso del tensioactivo aniónico (véase la tabla 2).

Tabla 2:

N.º	concentración de ClO ₂	tiempo de incubación	resultado
1	ninguna, control	-	esporulación completa
2	25 ppm	60 min	sin esporulación
3	20 ppm	60 min	sin esporulación
4	10 ppm	60 min	esporulación parcial
5	4 ppm	60 min	esporulación completa
6	1 ppm	60 min	esporulación completa
7	0,5 ppm	60 min	esporulación completa

20 Los resultados muestran que la composición según la invención, que comprende una baja concentración de dióxido de cloro y el tensioactivo de alquil-difeniloxidodisulfonato, es eficaz contra coccidios a concentraciones de 20 ppm y superiores cuando se usa un tiempo de incubación de 60 min. A concentraciones de 10 ppm; se observa esporulación parcial, mientras que a concentraciones por debajo de 4 ppm se observa esporulación completa.

De estos experimentos se desprende que a concentraciones por encima de 15 ppm de dióxido de cloro los ovocistos no esporulados de coccidios pueden inactivarse completamente. Como resultado, concentraciones de dióxido de cloro por encima de 15 ppm pueden inactivar completamente los ovocistos.

25 Ejemplo 2: Infección con ovocistos esporulados

30 Se realizó una serie adicional de experimentos con el fin de evaluar el patrón de inactivación de ovocistos esporulados. Con este fin se incubaron 30.000 ovocistos durante 60 min con la composición que contenía dióxido de cloro a niveles que variaban entre 4 y 40 ppm de dióxido de cloro. Después de eso, se lavaron las suspensiones de ovocistos con agua tres veces y se administraron por vía oral 20.000 ovocistos a un ratón. Se usó un ratón por cada concentración. Además, se trataron dos ratones, cada uno con 20.000 ovocistos esporulados no tratados, con fines de control. A partir del cuarto día tras la infección se tomaron diariamente muestras de los excrementos de los ratones y se examinó la presencia de ovocistos de *Eimeria papillata* (véase la tabla 3).

Tabla 3:

n.º de ratón	concentración de disolución de ClO ₂	tiempo de incubación	excreción			
			4 dpi	5 dpi	6 dpi	7 dpi
1	-, control	-	+++	++	++	+
2	40 ppm	60 min	+	+	+	+
3	20 ppm	60 min	++	++	+	+
4	10 ppm	60 min	++	++	++	+

ES 2 626 839 T3

5	4 ppm	60 min	++	++	++	+
6	120 ppm	60 min	-	-	-	-
7	240 ppm	60 min	-	-	-	-

dpi = días tras la infección

+++ excreción masiva de ovocistos

++ excreción de muchos ovocistos

+ excreción de pocos ovocistos

5 - sin ovocistos detectables

Los resultados muestran que con concentraciones de dióxido de cloro de entre 4 y 40 ppm no puede evitarse la excreción de ovocistos de *Eimeria papillata* en ratones Balb/C tras el tratamiento de los ovocistos con estas concentraciones de dióxido de cloro en tiempos de incubación de 60 min.

10 También se realizaron ensayos a concentraciones de 120 ppm y 240 ppm. En estas pruebas se descubrió que no podían encontrarse ovocistos detectables. A estas concentraciones los coccidios se exterminan eficazmente.

Se llevaron a cabo los mismos experimentos con la composición acuosa según la invención. Se usó una composición que tenía una concentración de dióxido de cloro de entre 4 ppm y 25 ppm y la concentración de un tensioactivo aniónico tal como se describió en el ejemplo 1 (véase la tabla 4).

Tabla 4:

n.º de ratón	concentración de disolución de ClO ₂	tiempo de incubación	excreción			
			4 dpi	5 dpi	6 dpi	7 dpi
1	-, control	-	+++	++	++	+
2	25 ppm	60 min	-	-	-	-
3	20 ppm	60 min	-	-	-	-
4	10 ppm	60 min	++	++	++	+
5	4 ppm	60 min	++	++	++	+

15 dpi = días tras la infección

+++ excreción masiva de ovocistos

++ excreción de muchos ovocistos

+ excreción de pocos ovocistos

- sin ovocistos detectables

20 Los resultados en la tabla 4 muestran que usando las composiciones descritas por la invención a concentraciones de dióxido de cloro superiores a 20 ppm, la composición inactiva completamente los coccidios ya que no se desarrollan o se detectan ovocistos en los excrementos de ratón. A concentraciones por debajo de 15 ppm comenzando a partir del cuarto día tras la infección, se excretan muchos ovocistos. Por tanto, a estas concentraciones, no hay una inactivación completa.

25

REIVINDICACIONES

1. Método para preparar una composición acuosa que comprende de 15 a 115 ppm de dióxido de cloro y del 0,01 al 1% en peso de un tensioactivo aniónico combinando
 - (a) una parte de clorito que comprende un clorito de metal alcalino, y
 - 5 (b) una disolución de ácido que comprende
 - (b1) del 1 al 5% en peso de un ácido carboxílico débil y
 - (b2) del 2 al 10% en peso de ácido fosfórico
 - (c) siendo del 10 al 25% en peso del tensioactivo aniónico un (alquil C₆ a C₁₈)-difenoiloxidodisulfonato y/o un (alquil C₆-C₁₈)-(sulfofenoxi)benzenosulfonato,
 - 10 y dilución de la mezcla con agua.
2. Método según la reivindicación 1, en el que la parte de clorito es una disolución acuosa que comprende del 2 al 15% en peso de un clorito de metal alcalino.
3. Método según la reivindicación 1 ó 2, en el que la parte de clorito es un sólido que comprende clorito de metal alcalino y un relleno.
- 15 4. Método según la reivindicación 3, en el que el relleno es carbonato de sodio.
5. Método según la reivindicación 3 ó 4, en el que la parte de clorito es una parte sólida en forma de un comprimido, un gránulo o un polvo.
6. Método según las reivindicaciones 1 ó 5, en el que el ácido carboxílico débil se selecciona del grupo que consiste en ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido glicólico, ácido tartárico y ácido propiónico o mezclas de los mismos.
- 20 7. Método según las reivindicaciones 1 a 6, en el que el clorito de metal alcalino es clorito de sodio.
8. Composición acuosa para inactivar parásitos coccidios esporulados y/o no esporulados que puede obtenerse mediante el método según las reivindicaciones 1 a 7.
9. Composición acuosa según la reivindicación 8, en el que la composición comprende de 20 a 100 ppm de dióxido de cloro.
- 25 10. Composición acuosa según la reivindicación 8 ó 9, en el que la composición comprende del 0,05 al 0,5% en peso del tensioactivo.
11. Método para inactivar coccidios esporulados y/o no esporulados aplicando la composición según las reivindicaciones 8 a 10 a la superficie contaminada por coccidios durante de 1 min a 1 h, preferiblemente de 15 min a 45 min.
- 30