



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 102 24 979 B4** 2004.07.15

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **102 24 979.2**
(22) Anmeldetag: **05.06.2002**
(43) Offenlegungstag: **24.12.2003**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **15.07.2004**

(51) Int Cl.7: **A01N 31/14**
A01N 31/02

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden.

(71) Patentinhaber:
Schülke & Mayr GmbH, 22851 Norderstedt, DE

(74) Vertreter:
Uexküll & Stolberg, 22607 Hamburg

(72) Erfinder:
Beilfuß, Wolfgang, Dr., 22339 Hamburg, DE;
Gradtko, Ralf, 25436 Tornesch, DE; Siegert,
Wolfgang, 25479 Ellerau, DE; Mohr, Michael, 24568
Kaltenkirchen, DE; Weber, Klaus, Dr., 20149
Hamburg, DE

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:
DE 41 40 474 C2
DE 100 28 638 A1
DE 100 25 124 A1
DE 697 16 251 T2
US 57 36 574

(54) Bezeichnung: **Verwendung von synergistischen Zubereitungen auf Basis von Gemischen von Glycerinether mit aromatischem Alkohol zur Bekämpfung von Mykobakterien**

(57) Hauptanspruch: Verwendung eines Desinfektionsmittels, das (a) einen oder mehrere 1- oder 2-(C₃- bis C₂₄-Alkyl)glycerinether und (b) einen oder mehrere aromatische Alkohole ausgewählt aus Aryloxyalkanolen, Oligoalkanolarylethern und Arylalkanolen umfasst, zur Bekämpfung von Mykobakterien.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung eines Desinfektionsmittels zur Bekämpfung von Mykobakterien.

[0002] Mykobakterien sind durch biozide Wirkstoffe vergleichsweise schwer zu inaktivieren. Sie gehören wegen ihrer wachsartigen Zellwand zu den chemoresistentesten Erregern. Als hinreichend wirksam haben sich Phenole, Aldehyde, oxidierende Stoffe wie Aktivsauerstoffverbindungen oder Halogene und niedere Alkohole (wie Ethanol und Propanole) erwiesen. So enthält beispielsweise ein modernes aldehydfreies Desinfektionsmittel zur manuellen Instrumentendesinfektion folgende Wirk- und Inhaltsstoffe: 10 bis 20 Gew.% quartäre Ammoniumverbindungen, 5 bis 15 Gew.% Phenoxypropanole, 3 bis 10 Gew.% Aminoalkylglyzine, nichtionische Tenside, Korrosionsschutzinhibitoren, pH-Regulatoren, Duftstoffe und Farbstoffe. Ein aldehydbasiertes Instrumentendesinfektionsmittel enthält 5 bis 15 Gew.% Glutaraldehyd, 7 bis 11 Gew.% Formaldehyd, 2 bis 6 Gew.% quartäre Ammoniumverbindung, nichtionische Tenside, pH-Regulatoren, Duftstoffe und Farbstoffe.

[0003] Diese bekannten Zusammensetzungen sind aber oft aggressiv gegenüber den Materialien, auf die sie aufgebracht werden, beispielsweise werden Teile aus Kunststoff (z.B. Dichtungen von medizinischen Instrumenten) von diesen Zusammensetzungen angegriffen. Der Einsatz dieser Biozide kann ferner bei Kontakt mit der menschlichen Haut zu Allergien oder Sensibilisierungen führen. Insbesondere Biozide mit stark elektrophilem Charakter (z.B. Isothiazolone, Organohalogenverbindungen) stehen als Konservierungs- bzw. Desinfektionsmittel verstärkt in der öffentlichen Diskussion und ihr Einsatz wird vom Gesetzgeber restriktiv reguliert. Demgegenüber sind Zusammensetzungen, die auf die Materialien oder die Haut weniger aggressiv wirken, gegenüber Mykobakterien oft nicht ausreichend aktiv.

[0004] Ferner sind niedere Alkohole erst bei hoher Einsatzkonzentration wirksam und weisen außerdem eine zu hohe Flüchtigkeit auf. Phenole besitzen aufgrund unzureichender biologischer Abbaubarkeit eine geringe Akzeptanz. Aktivsauerstoff-Verbindungen wie Peressigsäure werden ebenfalls verwendet, sind jedoch wegen des stechenden Geruchs und der korrosiven Eigenschaften unerwünscht. Aldehyde wie Formaldehyd oder Glutaraldehyd sind aufgrund toxikologischer Eigenschaften und aus Geruchsgründen nicht akzeptabel. Amine wie N,N'-Bis(3-Aminopropyl)laurylamin verleihen den mycobakteriziden Zubereitungen mit diesem Wirkstoff einen erhöhten pH-Wert, der zu einem erhöhten Risiko in der Haut- und Materialverträglichkeit führt. Von den tuberkulozid wirksamen aromatischen Alkoholen wie Phenoxypropanolen müssen deutlich größere Mengen eingesetzt werden, um eine entsprechende Wirkung zu erzielen, was wiederum zu einem erhöhten Risiko bei der Materialverträglichkeit führt. Weiterhin sind N,N'-substituierte Glyzinderivate als mycobakterizide Wirkstoffe beschrieben worden (siehe die DE-19801821 A1, diese Wirkstoffe neigen jedoch zu Schaumentwicklung, was für viele Anwendungen nicht erwünscht ist.

[0005] Es besteht daher ein Wunsch nach Mykobakterien kontrollierenden Zusammensetzungen, die die genannten Nachteile nicht oder nicht in diesem Maße aufweisen und verträglicher für Mensch (insbesondere die menschliche Haut) und Umwelt sind. Die Zusammensetzungen sollen Mykobakterien erfolgreich inaktivieren und gegenüber den Materialien, auf die sie aufgebracht werden, nicht aggressiv wirken.

Stand der Technik

[0006] Die Verwendung von Glycerinmonoalkylethern in dermatologischen Zusammensetzungen ist bekannt: Die DE-42 40 674 C2 offenbart, dass Glycerinmonoalkylether der Formel $R-O-CH_2-CHOH-CH_2OH$ eine desodorierende Wirkung aufweisen. Darüber hinaus wird eine Kombination von 0,15 Gew.-% Phenoxyethanol mit 0,135 Gew.-% 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether beschrieben, die darüber hinaus 40 Gew.-% Ethanol und 0,015 Gew.-% Dibromdicyanobutan enthält.

[0007] Die DE-A-40 26 756 C2 betrifft Konservierungsmittel, die als synergistische Wirkstoffe eine Mischung aus a) einer organischen Säure, b) einem Monophenylglykolether und c) einem Guanidinderivat enthalten. Die Beispiele 13 und 14 sind Konzentrate mit mehr als 60 Gew.-% Phenoxyethanol und 15 bzw. 10 Gew.-% Glycerinmonoalkylether. Die Konservierungsmittel der DE-40 26 756 sind gegenüber verschiedenen Bakterien und Hefen wirksam.

[0008] Die DE-41 40 473 C2 offenbart als Hautantiseptika und Händedesinfektionsmittel verwendbare Zusammensetzungen, die eine Kombination aus einer aliphatischen C_1 - bis C_6 -Alkylalkoholkomponente und mindestens einem Glycerinmonoalkylether in wässriger Lösung enthalten. Ein bevorzugter Glycerinether ist der 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether (Sensiva SC 50).

[0009] In der DE-41 24 664 A1 werden antimikrobiell wirksame Gemische beschrieben, die eine synergistische Kombination von arylsubstituiertem Alkanol mit Diol enthalten. Beispielhafte Diole sind Glycerinmonoalkylether.

[0010] Die DE-100 28 638 A1 betrifft Glycerinmonoalkylether umfassende Zusammensetzungen für den Einsatz im kosmetischen und pharmazeutischen Präparaten und in technischen Produkten. Diese Zusammensetzungen sind insbesondere langzeitlagerstabil und umfassen mindestens einen Glycerinmonoalkylether und

mindestens ein Antioxidans als Stabilisator.

[0011] Die DE-41 40 474 C2 betrifft Glycerinmonoalkylether als Hautpflegeadditiv in Reinigungs- und Pflegeprodukten insbesondere aus dem kosmetiknahen und dem kosmetischen Bereich.

[0012] Die DE-697 16 251 T2 betrifft die Verwendung von Octoxyglycerin in einer kosmetischen oder dermatologischen Zusammensetzung zur Behandlung von Seborrhoe und damit verbundenen Hautstörungen, insbesondere von Akne und/oder Hyperseborrhoe.

[0013] Die US-5 736 574 betrifft pharmazeutische/kosmetische Zusammensetzungen, die eine synergistische Kombination von mindestens einer antimikrobiellen Wirksamkeit zeigenden Hydrolipid-/Lipid-Verbindung und mindestens einem Glycerinmonoalkylether-Synergist dafür umfassen.

[0014] Die DE-100 25 124 A1 offenbart Zubereitungen mit einem Gehalt an einer Kombination von Glycerinmonoalkylether mit arylsubstituiertem Alkohol. Eine bevorzugte Arylverbindung ist Phenoxyethanol.

- Materialien, die im Krankenhausbereich verwendet werden und die desinfiziert werden müssen, nicht oder nicht ausgeprägt angreift und
- im Kontakt mit der menschlichen Haut nicht reizend und nicht entfettend wirkt (also nicht zwangsläufig einen hohen Gehalt an niederen Alkoholen wie Ethanol oder Isopropanol aufweist).

[0015] Die Lösung dieser Aufgabe besteht in der Verwendung eines Desinfektionsmittels, das (a) einen oder mehrere 1- oder 2-(C₃- bis C₂₄-Alkyl)glycerinether und (b) einen oder mehrere aromatische Alkohole ausgewählt aus Aryloxyalkanolen (Glykolmonoarylethern), Oligoalkanolarylethern und Arylalkanolen umfasst, zur Bekämpfung von Mykobakterien.

[0016] Beispiele für erfindungsgemäß eingesetzte Glycerinmonoalkylether sind mit gesättigtem oder ungesättigtem, verzweigtem oder unverzweigtem Alkyl in 1- oder 2-Position substituierte (d.h. symmetrische oder asymmetrische) Glycerinmonoalkylether wie Dodecylglycerinether, Decylglycerinether, Octylglycerinether, Propylglycerinether, Octadecylglycerinether (Batylalkohol), Hexadecylglycerinether (Chimylalkohol) und Octadecenylglycerinether (Selachylalkohol). Bevorzugt sind 1-Monoalkylglycerinether mit gesättigtem (verzweigtem oder unverzweigtem) C₃- bis C₁₈-Alkyl, besonders bevorzugt gesättigtem und verzweigtem C₆- bis C₁₂-Alkyl. Ganz besonders bevorzugt ist 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether (Sensiva[®] SC 50).

[0017] Erfindungsgemäß eingesetzte Aryloxyalkanole besitzen die Formel Ar-O-(CHR)_n-OH mit R = unabhängig H (für n ≥ 2) oder C₁- bis C₆-Alkyl, wobei n eine ganze Zahl und bevorzugt 2 bis 10 ist, bevorzugter 2 bis 6 und insbesondere 2 oder 3. Während die Gruppe Ar eine kernsubstituierte oder unsubstituierte Arylgruppe sein kann, sind unsubstituiertes Aryl, z.B. Phenyl oder Naphthyl, bevorzugt. Beispielhafte erfindungsgemäß eingesetzte Aryloxyalkanole sind Phenoxyethanol und Phenoxypropanole. Bevorzugte Phenoxypropanole sind 1-Phenoxypropanol-2, 2-Phenoxypropanol-1 oder Gemische derselben sowie 3-Phenoxypropanol-1. Zu den Oligoalkanolarylethern gehören beispielsweise Phenoxy-di-, -tri- und -oligoethanol und Phenoxy-di-, -tri- und -oligopropanol.

[0018] Erfindungsgemäß eingesetzte Arylalkanole besitzen die Formel Ar-(CHR)_n-OH mit R = unabhängig H oder C₁- bis C₆-Alkyl, wobei n eine ganze Zahl und bevorzugt 1 bis 10 ist, bevorzugter 1 bis 6 und insbesondere 1, 2, 3 oder 4. Während die Gruppe Ar eine kernsubstituierte oder unsubstituierte Arylgruppe sein kann, sind unsubstituiertes Aryl, z.B. Phenyl oder Naphthyl, bevorzugt. Beispielhafte Arylalkanole sind 3-Phenylpropanol-1, Phenethylalkohol, Veratrylalkohol (3,4-Dimethoxyphenylmethylalkohol), Benzylalkohol und 2-Methyl-1-phenyl-2-propanol.

[0019] In einer Ausführungsform ist das Gewichtsverhältnis x von Komponente (a) zu Komponente (b) in dem erfindungsgemäß verwendeten Desinfektionsmittel 0,15 oder kleiner, bevorzugt 0,09 oder kleiner, bevorzugter 0,08 bis 0,03 und insbesondere 0,07 bis 0,04.

[0020] In einer weiteren erfindungsgemäßen Ausführungsform liegt das verwendete Desinfektionsmittel in Form einer Gebrauchsmischung vor und enthält eine vergleichsweise geringe Menge der Komponenten (a) und (b), z.B. (a) 0,05 bis 1 Gew.-% einen oder mehrere Glycerinmonoalkylether, z.B. 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether, und (b) 0,2 bis 5 Gew.-% ein oder mehrere aromatische Alkohole wie Glykolmonoarylether. Ein Beispiel für eine Gebrauchsmischung ist eine Gebrauchslösung. Eine bevorzugte Gebrauchslösung liegt als wässrige Lösung vor und enthält mehr als 95 Gew.-% Wasser, z.B. 96 bis 99,5 Gew.-%, bevorzugter 97 bis 99 Gew.-%, insbesondere 98 bis 98,5 Gew.-% Wasser. Besonders bevorzugt ist der Einsatz einer Gebrauchslösung, die (a) 0,05 bis 0,2 Gew.-% 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether und (b) 1,0 bis 2,0 Gew.-% Phenoxyethanol umfasst. Alternativ kann die eingesetzte Gebrauchsmischung in fester, pastöser oder hochviskoser Form vorliegen.

[0021] In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung liegt das verwendete Desinfektionsmittel als Konzentrat vor und enthält vergleichsweise große Mengen der Komponenten (a) und (b). Weil ein bevorzugtes Konzentrat ein einphasiges Konzentrat ist, das sich besonders einfach mit anderen Komponenten zu einer Gebrauchsmischung formulieren lässt, liegt ein bevorzugtes erfindungsgemäß verwendetes Konzentrat, wegen der begrenzten Wasserlöslichkeit der Komponenten (a) und (b) (Sensiva[®] SC 50 ist in Wasser bei Raumtemperatur bis zu 0,1 Gew.-% löslich, Phenoxyethanol beispielsweise ist in Wasser bei Raumtemperatur bis 1,8 Gew.-% löslich), wasserfrei vor.

[0022] Neben den erfindungsgemäß verwendeten Komponenten (a) und (b) kann das eingesetzte Desinfektionsmittel weitere Komponenten enthalten. Bevorzugt liegt es jedoch tensidarm vor und enthält weniger als 5 Gew.-% Tensid, bevorzugt weniger als 2 Gew.-%, besonders bevorzugt weniger als 0,5 Gew.-% Tensid und ist insbesondere bevorzugt tensidfrei. Die weiteren Komponenten können feste, flüssige oder gasförmige weitere Wirkstoffe, funktionelle Zusatzstoffe oder Hilfsstoffe sein.

[0023] Wegen der besonderen physiologischen Verträglichkeit haben erfindungsgemäß verwendete Desinfektionsmittel einen breiten Anwendungsbereich. Sie können als klare, homogene, z.B. wässrige Zubereitungen, oder als niedrigviskose oder hochviskose Zubereitungen, z.B. Gele vorliegen. Die eingesetzten Desinfektionsmittel sind über einen breiten pH-Bereich wirksam und in stark sauren bis stark alkalischen Medien einsetzbar, bevorzugt im pH-Bereich von 3 bis 11, besonders bevorzugt 5 bis 9.

[0024] Beispiele für hier als Desinfektionsmittel bezeichnete Zusammensetzungen sind:

- 1) Technische Produkte wie Biozid-Dispersionen, Dispersionen im Agrarbereich, Pestizidzubereitungen, Polymerdispersionen, Kleber, Verdicker, Farben, Beschichtungsstoffe, Pigmentdispersionen, photographische Materialien (z.B. Entwicklerlösungen),
- 2) Dermatologische und kosmetische Produkte, z.B. zur topischen Anwendung oder als leave-on- oder rinse-off-Produkte wie Sonnenschutzpräparate, Feuchttücher, polymere Zubereitungen mit filmbildenden Eigenschaften, Zahnpasten, Pflegeprodukte, Makeup, Lippenstifte, Nagellack,
- 3) Pharmazeutische Präparate wie isotonische Lösungen, Arzneimittel und Impfstoffe sowie
- 4) Desinfizierende Zubereitungen wie Deodorantien, Fußdeodorantien, alkoholische Sprühdesinfektionsmittel und Mittel zur manuellen Instrumentenaufbereitung.

[0025] Oberflächen, mit denen Desinfektionsmittel erfindungsgemäß behandelt werden können, sind

- i) biologische Materialien wie Haut, Schleimhaut, Wunden, Pflanzen, Pflanzenteile,
- ii) Materialien, die in Kontakt mit Haut, Schleimhaut oder Wunden kommen, wie Kontaktlinsen oder Wundauflagen,
- iii) Flächen wie medizinische Geräte, medizinische Instrumente (z.B. Endoskope) oder Oberflächen wie Fußböden und Operationstische.

[0026] Eine weitere erfindungsgemäße Ausführungsform betrifft ein Verfahren zur Behandlung der genannten Oberflächen, insbesondere zur Bekämpfung von Mykobakterien. Dazu lässt man das Desinfektionsmittel auf die zu desinfizierende Oberfläche einwirken. Das erfindungsgemäße Desinfektionsverfahren findet insbesondere Anwendung bei der Desinfektion von medizinischen Instrumenten oder Laborgeräten, wobei die zu desinfizierenden Oberflächen aus Metall, Glas, Kunststoff oder Keramik gefertigt sein können.

[0027] Das erfindungsgemäße Desinfektionsverfahren kann durch Ultraschall, Druck oder Mikrowellenstrahlung unterstützt werden. Dabei wird der Fachmann zwischen den Parametern Anwendungszeit und Konzentration der Komponenten (a) und (b) ein Optimum wählen, das der gewünschten mikrobiziden Wirkung entspricht, in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit des zu desinfizierenden Materials.

[0028] Die erfindungsgemäß eingesetzten Desinfektionsmittel sind wirksam gegen Bakterien (gram-positive und gram-negative), Hefen und Schimmelpilze und Viren. So sind sie beispielsweise wirksam gegen Propionibakterien (*Propionibacterium acnes*), Kopfschuppen verursachende Keime, Prionen, Antibiotika-resistente Keime, behüllte und/oder unbehüllte Viren, geruchsverursachende Mikroorganismen, niedere Schadorganismen, Protozoen und Dauerformen.

[0029] Die vorliegende Erfindung bietet u.a. die folgenden Vorteile:

- Die Desinfektionsmittel können aus preiswerten Komponenten formuliert werden.
- Die Desinfektionsmittel sind pH-neutral, wenig aggressiv (geringe Korrosion) und entsprechend gut materialverträglich.
- Die Mittel sind geruchsarm, emissionsarm, inert bzw. gut verträglich mit anderen Zusatz- oder Hilfsstoffen, toxikologisch und ökotoxikologisch unbedenklich, physiologisch unbedenklich (gute Hautverträglichkeit), gut lagerstabil und gut abspülbar.
- Die Mittel zeigen keine Verfärbungsneigung, sind bei kurzen Einwirkzeiten wirksam und erfordern aufgrund der synergistischen Wirkungssteigerung eine geringe Wirkstoffkonzentration.
- Die Mittel sind schaumarm und oxidations- und pH-stabil.

[0030] Die Vorteile der Erfindung ergeben sich insbesondere aus den folgenden Beispielen.

Beispiele

[0031] Es werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

SC 50
Wasser
Ethanol
POE

1-(2-Ethylhexyl)glycerinether, Sensiva® SC 50
vollentsalztes Wasser
Ethanol, mit Methylethylketon vergällt
Phenoxyethanol

[0032] Soweit nicht ausdrücklich anders angegeben erfolgen alle Prozentangaben in Gew.-%.

Beispiel 1: Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Mycobacterium terrae bei Raumtemperatur

[0033] Verschiedene wässrige Desinfektionsmittel wurden bezüglich ihrer Wirksamkeit auf Mycobacterium terrae, Keimzahl 1 bis 3×10^9 im quantitativen Suspensionsversuch ohne Belastung getestet. Dabei wurden die folgenden Reduktionsfaktoren gemessen, wobei ein Reduktionsfaktor von > 5 einer ausreichenden Tb-Wirksamkeit entspricht. Dazu wurden wässrige Wirkstofflösungen mit verschiedenen Mengen Ethanol versetzt und nach einer Einwirkung für 15, 30 bzw. 60 Minuten getestet. Zur Testung der tuberkuloziden Wirkung wurde der quantitative Suspensionsversuch Mycobacterium terrae (ATCC15755) gemäß der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie vom 30. April 1997 verwendet (Hyg. Med. 22, 1997, Heft 6, Seiten 278ff.).

Mittel	Mittel ohne Gehalt an Ethanol			10 % EtOH			20 % EtOH			30% EtOH		
	15'	30'	60'	15'	30'	60'	15'	30'	60'	15'	30'	60'
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,83	2,78	4,65
B	0	0	0	0	0	0	0	0	0,66	2,02	4,02	5,52
C	0	0	0	0	1,92	2,98	3,67	6,14	5,36	5,49	6,14	5,36
D	2,94	5,41	5,52	4,66	5,41	5,52	5,36	5,41	5,52	5,36	5,41	5,52

- A) Wasser
B) 0,1 % SC 50 in Wasser
C) 1,5 % POE in Wasser
D) 0,1 % SC 50 + 1,5 % POE in Wasser

Ergebnis:

[0034] Tests mit Mycobacterium tuberculosis wurden wegen der Gefährlichkeit des Tuberkelbakteriums nicht durchgeführt. Aufgrund der starken strukturellen Ähnlichkeit von Mycobacterium terrae mit Mycobacterium tuberculosis erlauben jedoch die obigen Ergebnisse der Wirksamkeitstests mit Mycobacterium terrae eine Aussage über die Wirksamkeit auf Mycobacterium tuberculosis.

[0035] Wässriges Ethanol ist selbst bei einem Gehalt von 30% nicht ausreichend Tb-wirksam. Durch Zusatz von 0,1% Glycerinmonoalkylether Sensiva® SC 50 wird 30%iges Ethanol bei einer Einwirkzeit von 60 Minuten ausreichend Tb-wirksam. Durch Zusatz von 1,5% Glykolmonoarylether POE wird 20%iges Ethanol bei einer Einwirkzeit von 30 Minuten ausreichend Tb-wirksam. Demgegenüber ist eine erfindungsgemäße Kombination von 0,1% Sensiva SC 50 mit 1,5% POE auch ohne Ethanolzusatz bei einer Einwirkzeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur Tb-wirksam.

[0036] Erfindungsgemäße wässrige Gebrauchslösungen sind bereits bei geringen Gehalten der Komponenten (a) und (b) ausreichend wirksam. Ferner benötigen erfindungsgemäße Mittel zur Wirksamkeit gegenüber Mykobakterien keine vergleichsweise hohe Ethanolmenge, die u.a. wegen der damit verbundenen korrodierenden Wirkung auf verschiedene Materialien und der Auswaschwirkung bei Einwirkung z.B. auf die Hände unerwünscht ist.

Beispiel 2: Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln im Koko-Test

[0037] Die folgenden wässrigen Gebrauchslösungen wurden mit Ringerlösung als Produkt im Koko-Test untersucht:

Untersuchungsprinzip

[0038] Mit Hilfe der beschriebenen Methode wird die Wirksamkeit chemischer Konservierungsmittel im Hinblick auf die Gebinde-Konservierung für Kosmetik-Formulierungen überprüft. Hierzu werden in verschiedenen

Versuchsansätzen zu den unkonservierten Proben die zu untersuchenden Konservierungsmittel in verschiedenen Konzentrationen zugegeben. Eine laufende Keimbelastung wird durch periodisches Beimpfen der Versuchsansätze erreicht. Parallel zur Beimpfung werden jeweils unmittelbar davor Ausstriche der einzelnen Ansätze vorgenommen. Es erfolgt eine Beurteilung anhand des mikrobiellen Wachstums der Ausstriche. Ein Konservierungsmittel ist umso wirksamer, je länger der Zeitraum bis zum ersten Auftreten mikrobiellen Wachstum ist.

Lösungen und Nährmedien

CSA (Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar)

SA (Sabouraud-Dextrose-Agar)

SA-Schrägröhrchen

CSA + TLSH (Nr. 4)

SA-TLSH (Nr. 10)

NaCl (physiologische Kochsalzlösung, 8,5%)

TLSH = Enthammermedium für Bakterien (Tween[®]80 + Lecithin + Saponin + Histidin)

[0039] Als Testkeim wurde die Mischsuspension (Gruppe 5) der folgenden vier Testkeimgruppen eingesetzt.

Gruppe 1 (Koko 1)	Staphylococcus aureus	ATCC 6538
	Staphylococcus epidermis	ATCC 12228
Gruppe 2 (Koko 2)	Enterobacter gergoviae	Dr.Eigener/Firma Beiersdorf 1994
	Escherichia coli	ATCC 11229
	Klebsielle pneumoniae	ATCC 4352
Gruppe 3 (Koko 3)	Pseudomonas aeruginosa	ATCC 15442
	Pseudomonas fluorescens	ATCC 17397
	Pseudomonas putida	ATCC 12633
Gruppe 4 (Koko 4)	Aspergillus niger	ATCC 6275
	Penicillium funiculosum	ATCC 36839
	Candida albicans	ATCC 10231

Anzucht der Testkeime

Bakterien:

Ausstrich mit sterilem Glasstab auf CS-Agar

Hefen:

Ausstrich mit sterilem Glasstab auf SA-Agar

Pilze:

Aspergillus niger wird auf 4Sa-Schrägröhrchen übertragen
Penicillium funiculosum wird auf Sa-Agarplatten übertragen

[0040] Alle Testkeime werden eine Woche bei 25°C + 2°C bebrütet. Die Testkeime werden im Abstand von 3 bis 4 Monaten erneuert.

Herstellung der Impflösung (Gruppen 1 bis 3)

[0041] Die Bakterien werden mit je 5 ml NaCl-Lösung abgeschwemmt, durch einen Glastrichter mit Glaswolle in einen 100 ml-Meßzylinder filtriert und mit NaCl auf 100 ml aufgefüllt. Die Bakteriensuspensionen haben einen Titer von ca. 10⁹ KBE/ml.

Herstellung der Impflösung (Gruppe 4)

[0042] Drei Aspergillus niger-Schrägröhrchen werden mit je 3 ml NaCl-Lösung auf dem Heldolph-Rührer geschüttelt und durch einen Glastrichter mit Glaswolle gegeben. Die Hefe Candida albicans wird mit 5 ml NaCl

abgeschwemmt und ebenfalls durch den Glastrichter gegossen. 5 ml einer Penicillin funiculosum-Suspension (Herstellung der Pilzsuspension siehe Prüfanweisung Nr. 22) wird in diese Mischung gegeben und mit NaCl auf 100 ml aufgefüllt. Die Pilzsuspension hat einen Titer von ca. 10^{5-9} KBE/ml.

Herstellung der Impflösung (Gruppe 5)

[0043] Die Herstellung der tatsächlich eingesetzten Impflösung erfolgt wie oben beschrieben (Gruppen 1 bis 4). Nach dem Abschwemmen werden diese gemischt und dann erst auf 100 ml mit NaCl aufgefüllt.

[0044] Die Keimsuspensionen wurde in sterile Glasstopfen-Flaschen mit Glasperlen umgefüllt und 5 min bei 200 Einheiten/min Schüttelfrequenz (Hin- und Her-Bewegung) geschüttelt. Der Keimgehalt der Mischsuspension liegt bei 10^9 KBE/ml. Die Suspension sollte am Herstellungstag verwendet werden, kann aber bei Lagerung im Kühlschrank auch nach 24 Stunden eingesetzt werden.

Durchführung

[0045] In getrennten Ansätzen werden jeweils 25 g des zu prüfenden Kosmetikums mit den zu untersuchenden Konservierungsmitteln in unterschiedlichen Konzentrationen versetzt. Als Wachstumskontrolle dient jeweils ein unkonserviertes Produktmuster. Die Testansätze werden einmal wöchentlich nach gründlichem Verühren mit einem sterilen Glasstab auf CSA/TLSH und Sa/TLSH ausgestrichen, wobei der erste Anstrich unmittelbar vor der Neubeimpfung erfolgt. Alle Proben werden mit 0,1 ml der jeweiligen Keimsuspension beimpft und gründlich verrührt.

[0046] Die Beurteilung des mikrobiellen Wachstums der Ausstriche erfolgt nach einer dreitägigen Inkubation bei $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Negative Ausstriche werden sicherheitshalber weitere 2 Tage beobachtet und nochmals beurteilt. Die Beurteilung der Konservierungswirkung der einzelnen Produktkonzentration erfolgt in halbqualitativer Methode über den Bewuchs der einzelnen Ausstriche.

[0047] Der Test wird üblicherweise über sechs Impfyklen durchgeführt und nach zweimaligem massiven Wachstum abgebrochen.

Beurteilung der Ergebnisse

[0048] Ein Konservierungsmittel ist dann als gut zu beurteilen, wenn es unter den obengenannten Laborbedingungen einen Zeitraum von 6 Wochen ohne Keimbefall der Probenansätze besteht, d.h. auch nach der sechsten Beimpfung kein mikrobielles Wachstum nachweisbar ist.

	Überstandene Impfyklen
0,1 % SC 50	0
1,0 % POE	1
0,1 % SC 50 + 1,0 % POE	> 6

Ergebnis:

[0049] Erfindungsgemäße Desinfektionsmittel zeigen im Koko-Test die synergistische Wirkung der Komponenten (a) und (b).

Beispiel 3: Erhöhung der Wirksamkeit von erfindungsgemäßen Desinfektionsmitteln auf *B. subtilis* durch Zugabe von H_2O_2

[0050] Es wurden die folgenden Desinfektionsmittel formuliert:

	3A	3B	3C	3D	3E	3F
SC 50	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1
POE	1,5	1,56	1,5	1,5		1,5
H_2O_2 30%	16,7	13,3	10,0	6,7	16,7	
Wasser	81,7	85,1	88,4	91,7	83,3	98,4

[0051] Mit diesen Desinfektionsmitteln wurden mit *B. subtilis* die folgenden Reduktionsfaktoren erhalten. Dabei wurde in Anlehnung an den DIN-Entwurf EN14347 "Sporizide Wirkung (Basistest)" vom Februar 2002 vorgegangen, siehe dort insbesondere Punkt 5.5.2.2.1.

Mittel	Verdünnung mit Wasser	Einwirkzeit						%H ₂ O ₂ A.I.
		15'	30'	60'	2h	4h	6h	
3A	unverdünnt	0,22	0,29	0,45	0,54	4,70	4,78	5 %
3B	unverdünnt	0,14	0,15	0,25	0,50	0,81	4,78	4 %
3C	unverdünnt	0,23	0,20	0,31	0,47	0,51	2,99	3 %
3D	unverdünnt	0,28	0,26	0,34	0,41	0,42	0,76	2 %
3E	unverdünnt	0,29	0,30	0,40	0,49	1,66	4,78	5 %
3F	unverdünnt	0	0	0	0	0,37	0,19	

Ergebnis:

[0052] Die Sporenwirksamkeit von erfindungsgemäßen Desinfektionsmitteln kann durch Zugabe von H₂O₂ erhöht werden.

Beispiel 4: Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf Bakterien und Hefepilze

[0053] Die folgenden drei Formulierungen wurden bezüglich ihrer Wirksamkeit untersucht:

4A	0,1% SC 50 in Wasser
4B	1,5% POE in Wasser
4C	0,1% SC 50 + 1,5% POE in Wasser

[0054] Mit diesen Formulierungen wurden die folgenden Reduktionsfaktoren erhalten (SA = Staphylococcus aureus, PS = Pseudomonas aeruginosa, EC = Escherichia coli, PM = Proteus merabilis und CA = Candida albicans), wobei auch 50%ige und 25%ige Verdünnungen mit Wasser untersucht wurden (Ausgangskeimzahl 0,8 – 5 × 10⁹/ml, bei CA 2 × 10⁷/ml, Enthemmung Tryp-NaCl-TLSH (Nr. 22).

Methode:

[0055] 0,1 ml der Keimsuspension in CSL werden bei Zimmertemperatur mit 10 ml der zu prüfenden Desinfektionsmittelverdünnung (in Wasser standardisierter Härte, WSH) gut vermischt. Nach Einwirkungszeiten von 5, 15, 30 und 60 Minuten wird dem Desinfektionsmittel-Keimgemisch jeweils 1 ml entnommen und in 9 ml Inaktivierungsflüssigkeit (0,1% Trypton + 0,85% NaCl in Aqua bidest + Inaktivierungssubstanzen) verimpft. Nach längstens 30 Minuten Kontaktzeit in Inaktivierungsflüssigkeit werden Verdünnungen (10⁻² und 10⁻⁴ in 0,1% Trypton + 0,85 NaCl in Aqua bidest) angelegt. Von der Inaktivierungsflüssigkeit und den zwei Verdünnungen werden anschließend je 0,1 ml auf je 3 CSA-Platten aufgespatelt. Zur Kontrolle wird die jeweilige Festkeimsuspension anstelle von Desinfektionsmittel mit 10 ml WSH vermischt. Parallel zu den entsprechenden Einwirkzeiten sind von diesem Ansatz in gleicher Weise Subkulturen anzulegen.

[0056] Alle Subkulturen werden 48 Stunden bei 37°C, bei Candida albicans 72 Stunden bei 37°C, bebrütet und die Kolonien ausgezählt. Die Berechnung der Reduktion geschieht folgendermaßen: Auszuwerten sind KWE zwischen 20 und 300 pro CSA-Platte. Nach Bestimmung des arithmetischen Mittelwerts aus drei Werten wird die Desinfektionsmittelwirkung (KR_t) pro Zeit nach der Formel $KR_t = \log_{KBE(ko)}$ minus Logarithmus_{KBE(D)} berechnet, in der (KBE(ko) die Anzahl KBE pro ml ohne Einwirkung des Präparats ist und KBE(D) die Anzahl KBE pro ml nach Einwirkung des Präparates ist.

4A	Einsatz- konzentration	SA				PS			
		5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'
	100%	0	0	0	0	0	0	0	0
	50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
		EC				PM			
	100%	0	0	0	0	0	0	0	0
	50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
		CA							
	100%	0	0,59	0,05	0,22				
	50%	0	0,41	0,07	0				
	25%	0	0,19	0	0				

4B	Einsatz- konzentration	SA				PS			
		5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'
	100%	0	0	0	1,12	1,74	5,38	5,26	5,46
	50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
		EC				PM			
	100%	2,53	4,70	5,15	5,15	5,04	4,90	5,18	5,11
	50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
		CA							
	100%	0,43	0,45	0,35	0,33				
	50%	0,13	0,38	0,35	0,33				
	25%	0	0,29	0,35	0,22				

4C	Einsatz- konzentration	SA				PS			
		5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'
	100%	3,30	3,55	4,20	4,70	5,81	5,38	5,26	5,46
	50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
		EC				PM			
	100%	5,00	4,70	5,15	5,15	5,04	4,90	5,18	5,11
	50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0	0
		CA							
	100%	1,85	3,49	3,30	3,18				
	50%	0,07	0,13	0,35	1,18				
	25%	0,16	0	0,52	0,27				

[0057] Ergebnis: Aus diesen Daten ergibt sich eine teilweise synergistische Wirkung der Kombination von SC 50 mit POE.

Beispiel 5: Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf *Micrococcus luteus* im Hautversuch

[0058] Die folgenden ethanolhaltigen Desinfektionsmittel wurden formuliert. Als Testmethode diente die "Richtlinie für die Prüfung und die Bewertung von Hautdesinfektionsmitteln" der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie vom 1. Januar 1991, siehe Zbl. Hyg. 192, Seiten 99-103 (1991).

	5A	5B	5C	5D	5E'
Ethanol	35,0	35,0	35,0	35,0	
SC 50		1,0		0,5	
POE			1,0	0,5	
Wasser	65,0	64,0	64,0	64,0	30
Isopropanol					70
* Referenzlösung gemäß DGHM-Richtlinien für die Prüfung und Bewertung von Hautdesinfektionsmitteln					

[0059] Es wurden die folgenden Reduktionsfaktoren erhalten

Einwirkzeit					
30 Sekunden	0,68	2,36	1,55	2,83	2,11
1 Minute	0,75	2,86	1,95	3,21	2,30
2 Minuten	1,25	3,35	1,77	3,66	2,37

Ergebnis:

[0060] Verglichen mit der Referenzlösung zeigt die erfindungsgemäß eingesetzte Zusammensetzung eine verbesserte Wirksamkeit, wobei die erfindungsgemäß verwendete Gebrauchslösung (5D) 64% Wasser enthält, verglichen mit der Referenzlösung mit lediglich 30 Wasser. Die erfindungsgemäß eingesetzte Formulierung ist somit für die Haut viel verträglicher. Aus dem Vergleich mit der nicht erfindungsgemäßen Formulierung 5B ergibt sich, dass durch Kombination mit POE ein Teil des vergleichsweise teuren SC 50 ersetzt werden kann und sich durch diese Kombination sogar eine Verbesserung der Wirksamkeit ergibt.

[0061] Wirksamkeit gegen *Mycobacterium terrae* im quantitativen Suspensionsversuch

Zusammensetzung:	6 A	6 B
3-(n-Octyl)-1,2-propandiol	0,1	
3-Dodecyl-1,2-propandiol		0,1
POE	1,5	1,5
Wasser	98,4	98,4

(Angaben in Gew. %)

[0062] Quantitativer Suspensionsversuch bei Raumtemperatur gegen *Mycobacterium terrae*

[0063] Angegeben sind die Rf-Werte

	Einwirkzeit		
	15'	30'	60'
6 A	5,48	5,43	5,53
6 B	5,48	5,43	5,53

Patentansprüche

1. Verwendung eines Desinfektionsmittels, das (a) einen oder mehrere 1- oder 2-(C₃- bis C₂₄-Alkyl)glycerinether und (b) einen oder mehrere aromatische Alkohole ausgewählt aus Aryloxyalkanolen, Oligoalkanolarylethern und Arylalkanolen umfasst, zur Bekämpfung von Mykobakterien.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Mykobakterium ausgewählt ist aus *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium tuberculosis* und *Mycobacterium terrae*.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Desinfektionsmittel in Form einer Gebrauchsmischung vorliegt und
(a) 0,05 bis 1 Gew.-% 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether und
(b) 0,2 bis 5 Gew.-% einen oder mehrere aromatische Alkohole ausgewählt aus Aryloxyalkanolen, Oligoalkanolarylethern und Arylalkanolen umfasst.

4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Desinfektionsmittel in Form einer Gebrauchsmischung oder eines Konzentrats vorliegt und
(a) 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether und
(b) einen oder mehrere aromatische Alkohole ausgewählt aus Aryloxyalkanolen, Oligoalkanolarylethern und Arylalkanolen umfasst,
wobei das Gewichtsverhältnis x von Komponente (a) zu Komponente (b) 0,15 oder kleiner ist.

5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Gewichtsverhältnis x von Komponente (a) zu Komponente (b) 0,09 oder kleiner ist, bevorzugter 0,08 bis 0,03, insbesondere 0,07 bis 0,04.

6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Aryloxyalkanol Phenoxyethanol oder Phenoxypropanol ist.

7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Arylalkanol 3-Phenylpropanol-1, Phenethylalkohol, Veratrylalkohol, Benzylalkohol oder 2-Methyl-1-phenyl-2-propanol

ist.

8. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Desinfektionsmittel in Form einer Gebrauchsmischung vorliegt und

(a) 0,05 bis 0,2 Gew.-% 1-(2-Ethylhexyl)glycerinether und

(b) 1,0 bis 2,0 Gew.-% Phenoxyethanol umfasst.

9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Desinfektionsmittel darüber hinaus Wasser, Ethanol und/oder H_2O_2 umfasst.

10. Verfahren zur Bekämpfung von Mykobakterien, bei dem man ein Desinfektionsmittel, das (a) einen oder mehrere 1- oder 2-(C_3 - bis C_{24} -Alkyl)glycerinether und (b) einen oder mehrere aromatische Alkohole ausgewählt aus Aryloxyalkanolen, Oligoalkanolarylethern und Arylalkanolen umfasst, auf die zu desinfizierende Oberfläche einwirken lässt.

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die zu desinfizierende Oberfläche ein medizinisches Instrument oder Laborgerät oder eine biologische Oberfläche ist, insbesondere Haut, Schleimhaut, Wunden, Pflanzen oder Pflanzenteile.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass die zu desinfizierende Oberfläche aus Metall, Glas, Kunststoff oder Keramik gefertigt ist.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Desinfektionsmittel ein Desinfektionsmittel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9 ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen