



(12) **PATENT**

(11) **342505**

(13) **B1**

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

A01N 37/02 (2006.01)

A01N 37/12 (2006.01)

A01N 31/02 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20090170	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2007.06.21 PCT/US2007/014486
(22)	Inng.dag	2009.01.12	(85)	Videreføringsdag	2009.01.12
(24)	Løpedag	2007.06.21	(30)	Prioritet	2006.07.14, US, 11/486,736
(41)	Alm.tilgj	2009.04.14			
(45)	Meddelt	2018.06.04			
(73)	Innehaver	Urth Tech LLC, 30777 Northwestern Highway - Suite 300, US-M48334 FARMINGTON HILLS, USA			
(72)	Oppfinner	Aziz C Awad, 8131 Parkside Drive, US-M48185 WESTLAND, USA			
(74)	Fullmektig	TANDBERG INNOVATION AS, Postboks 1570 Vika, 0118 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Ikke-terapeutisk fremgangsmåte for rengjøring av et materiale samt preparat derav for behandling av et materiale			
(56)	Anførte publikasjoner	US 5879470 A, US 2005/202137 A1, HUMFELD H. "ANTIBIOTIC ACTIVITY OF THE FATTY-ACID-LIKE CONSTITUENTS OF WHEAT BRAN", J. of Bacteriology, 1947, vol. 54, nr. 4, s. 513-517, PURITCH G. "EFFECT OF FATTY ACID SALTS ON THE GROWTH OF BOTRYTIS CINEREA", Canadian Journal of Botany, 1981, 59(4), s. 491-494, XP000576627, ISSN: 0008-4026 WO 02/065838 A1, JP 2003183105 A			
(57)	Sammendrag				

Et preparat og en fremgangsmåte er beskrevet for rengjøring eller annen behandling av et materiale, slik som en ikke-levende overflate, levende vev, jordsmonn eller atmosfære som kan være kontaminert av et toksin, kjemisk krigføringsmiddel, insekt, prion, mikroorganisme eller annet infeksjøs middel. Også fremgangsmåter for fremstilling av preparatet er beskrevet.

Bakgrunn for oppfinnelsen

(1) Oppfinnelsens område

Denne oppfinnelsen vedrører preparater og fremgangsmåter for å rengjøre eller på annet vis behandle et materiale. Preparatene forbedrer dekonatimeringseffekten av lavere alkanoler som inneholder 1 til 6 karbonatomer (C_1 - C_6). Preparatene desinfiserer eller rengjør på annet vis materialer, slik som levende vev (hud, hender etc.) og ikke-levende objekter (instrumenter, medisinsk utstyr, militære og sivile fasiliteter, møbler, papir og trykte materialer osv.) fra skadelige kontaminanter inkludert, men ikke begrenset til, kjemiske krigføringsmidler (VX, sennepsgass, sarin, soman og tabun), toksiner, protozoer, insekter (f.eks. sykdomsvektorer) og patogene infeksjonsmidler, slik som bakterier, sopp, virus, sopp- og bakteriesporer og konformasjonsendrede prioner (CJD, CWD, BSE, scrapie).

(2) Beskrivelse av teknikkens stand

Mikrobedrepere inkluderer både antiseptika og desinfeksjonsmidler. Antiseptika er mikrobedrepere anvendt på levende vev og hud, mens desinfeksjonsmidler er antimikrobielle midler kun anvendt på ikke-levende objekter. Generelt anvendes antiseptika kun på huden og ikke for overflatedesinfisering, og desinfeksjonsmidler anvendes for antisepsis av hud fordi de kan forårsake skade på hud og andre vev (Rutala og Weber, 2004).

Tidligere krevde ikke desinfisering av faste overflater en hovedavgjørelse: Man kunne anvende en standard pulverdetergent, blekemiddel eller et skurepulver og ferdig med saken. Nå for tiden fyller desinfeksjonsmidler for faste overflater hele butikkreoler og inkluderer mange spesialiserte produkter, slik som baderoms-, toalettskål-, glass-, keramikk- og kjøkkendesinfeksjonsmidler av varierende typer, pulvere og skurekremer og tørkekluter. En årsak til økningen i antallet av desinfeksjonsmidler for fast overflate, er det enkle faktum at dagens faste overflater inkluderer mange flere materialtyper enn tidligere. Før besto for eksempel kjøkken og baderom hovedsakelig av tre og andre naturlige overflater, de moderne motstykker inneholder rustfritt stål, plastikk, glassfiber, keramikk, marmor, emalje og porselen, bare for å nevne noen få som gir nye desinfiseringsutfordringer.

På den annen side er det nylig blitt lagt fornyet vekt på håndhygiene og hudhelse som et resultat av Centers for Disease Control and Prevention (CDC)'s "Guideline for Hand Hygiene in Healthcare Settings." Håndhygiene er den viktigste utøvelse som kan hjelpe til med å redusere spredningen av infeksjoner på sykehus. CDC's National Nosocomial Infections Surveillance system (NNIS), som samler data fra omtrent 300 sykehus, beregner at det i sykehusene i USA er 2 millioner helsetjeneste-assosierte infeksjoner hvert år som gir nesten 90 000 dødsfall årlig og 4,5 milliarder dollar i økede

heksetjenestekostnader. Nåværende litteratur dokumenterer uakseptabelt lave nivåer av håndhygiene blant helsepersonell (HCW). Det er flere faktorer som påvirker HCWs oppfølging av håndvask: (1) mangel på lett tilgjengelighet til vasker, (2) håndvask forårsaker tørre og irriterte hender, (3) HCW har det for travelt til å vaske sine hender med såpe og vann ofte nok, (4) mangel på kunnskap om når håndhygiene burde finne sted, inkludert tilfeldig kontakt før og etter hanskebruk osv.

Såper er detergentbaserte produkter som inneholder estrifiserte fettsyrer og natrium- eller kaliumhydroksid. Enkle såper har minimal, om noen, antibakteriell aktivitet. I flere studier kunne ikke håndvask med vanlig såpe fjerne patogener fra hendene til sykehuspersonell og, noen ganger har vanlige såper blitt kontaminert, som kan lede til kolonisering av hendene til personell med gram-negative basiller (Boyce og Pittet, 2002). Håndrensemidler med alkohol er blitt introdusert til helsetjenestefasiliteter for å hjelpe HCW til å følge de anbefalte retningslinjene for håndhygiene. CDC legitimerte alkoholbaserte rengjøringsmidler fordi de forsto at effektiviteten av alkoholrengjøringsmidler var større enn såpe og vann til å redusere antallet av mikrober på hendene. Alkoholer er imidlertid ikke anbefalt for sterilisering av medisinske og kirurgiske materialer, hovedsakelig som følge av deres mangel på spordrepende virkning og deres evne til å gjennomtrenge proteinrike materialer (Rutala og Weber, 2004). Hoveddelen av alkoholbaserte håndantiseptika inneholder enten isopropanol, etanol, n-propanol eller en kombinasjon av to av disse produktene. De fleste studiene av alkoholer har evaluert individuelle alkoholer i varierende konsentrasjoner. Andre studier har fokusert på kombinasjoner av to alkoholer eller alkoholløsninger inneholdende begrensede mengder av heksaklorofen, kvartærnære ammoniumforbindelser, povidon-jodid, triklosan eller klorheksidinglukonat.

U.S. patentskrift nr. 4 200 655 til Farah et al., beskriver preparater som inneholder benzylalkohol som aktiv ingrediens, som er ment for topisk, virusdrepende anvendelse både *in vivo* og *in vitro*, spesielt for anvendelse på hendene og spesielt for å forhindre overføring av rhinovirus.

U.S. patentskrift nr. 4 446 153 til Yang beskriver et hudrensende preparat som er spesielt tilpasset som jurdip eller jurvask for melkekyr som omfatter minst én fenylalkohol som den antiseptiske ingrediens.

U.S. patentskrift nr. 4 695 453 til Tuominen et al. beskriver fortykkede, alkoholiske, antibakterielle preparater som inneholder fortrinnsvis etanol, propanol og benzylalkohol som aktive ingredienser.

U.S. patentskrift nr. 4 956 175 til Mignan et al. beskriver anvendelsen av antimikrobielle gelpreparater med høyt alkoholinnhold for desinfisering av hender og innehar fuktiggjørende og behandlende midler.

U.S. patentskrift nr. 6 022 551 til Jampani et al., beskriver et antimikrobielt preparat som omfatter et antimikrobemiddel, som er valgt fra gruppen bestående av mer

enn 30 volum% alkohol og en effektiv mengde triklosan og en effektiv mengde fenoksyetanol, en effektiv mengde av benzalkoniumklorid eller benzetoniumklorid og en effektiv mengde fosfolipid CDM. Dette antimikrobielle preparatet er ment for topisk anvendelse, slik som på hendene.

5 U.S. patentskrift nr. 6 248 343 til Jampani et al., vedrører antimikrobielle preparater som ytterligere tilveiebringer terapeutiske fordeler for huden. Den beskriver et antimikrobielt preparat som omfatter et antimikrobemiddel som er valgt fra gruppen bestående av mer enn 30 volum% alkohol, en effektiv mengde triklosan og blandinger derav, en effektiv mengde fenoksyetanol, en effektiv mengde benzalkoniumklorid eller
10 benzetoniumklorid og en effektiv mengde fosfolipid CDM og en effektiv mengde av en naturlig forekommende plante eller ekstrakt derav.

U.S. patentskrift nr. 6 617 294 til Narula et al. beskriver en vannløs, rengjørende håndreenser omfatter en effektiv mengde alkohol for å gi en reduksjon i mikroorganismer på overflaten av huden og bløtgjørere eller oljer for fuktiggjøring av hud.

15 U.S. patentsøknadspublikasjonsnr. 2005/0271595 til Brown beskriver et rensepreparat i form av en viskøs væske eller en gel som passende for anvendelse som et håndvaskpreparat som omfatter alkohol, vann, et fortykningsmiddel og antimikrobielle midler.

Europeisk patentsøknadsnr. 82110376.9 beskriver et vandig steriliseringsmiddel
20 for mat eller matprosesseringsmaskiner og redskap, som omfatter etanol og minst én alkalisk substans som aktive ingredienser.

Europeisk patentsøknadsnr. 83303799.7 vedrører vandige, desinfiserende løsninger med varig livdrepende aktivitet for desinfeksjon av faste overflater i sykehus, som omfatter fra 60 til 80 volum% av C₁ til C₄-alkanol og minst to antimikrobielle midler
25 med en kombinert konsentrasjon i løsningen på opptil 2 % vekt/volum. Det første antimikrobielle middelet er en biguanidforbindelse og det andre er en kvartærnær ammoniumforbindelse.

U.S. patentskrift nr. 4 678 658 til Casey et al. beskriver en aerosolspray for anvendelse i desinfeksjon av en overflate med en fin spray som i det vesentlige består av
30 laver alkylalkohol, en desinfiserende surfaktant, et pH-sensitivt fargestoff og et alkalisk stoff for å justere pH i væsken, slik at den gir en farge i væsken og at fargestoffet ved den raske nøytralisering ved lufttilførsel mister fargen.

U.S. patentskrift nr. 5 180 749 til Cusack et al. beskriver et vandig, antimikrobielt preparat som inkluderer opptil 30 vekt% etylalkohol og omtrent 2 til
35 5 vekt% benzylalkohol og det gjenværende opptil 100 % vann og en fremgangsmåte for anvendelse av preparatet for å ødelegge eller redusere antallet av mikrober på en ikke-levende overflate, som er kontaminert derved.

U.S. patentsøknadspublikasjonsnr. 2004/0213750 til Bennett et al. beskriver et vandig preparat for antimikrobiell behandling av fast overflate som omfatter en alkohol og et pH-justerende middel, slik at pH i preparatet er fra omtrent 7,0 til omtrent 13,0.

U.S. patentsøknadspublikasjonsnr. 2005/0202137 til Awad beskriver en fremgangsmåte for rensing av rødt kjøtt for humant forbruk med en vandig løsning som inneholder en lavere alkanol og pH-modifiserende midler.

U.S. patentskrift nr. 6 821 940 til Bullock et al. beskriver forfuktede tørkekluter inneholdende et substrat og et rensende preparat ved anvendelse av toksikologisk akseptable ingredienser for behandling av mat, slik som frembringning av f.eks. frukt og grønnsaker, spiselige dyreproteiner, leker, babystoler og dets like.

JP 2003183105 til Uneo Pharm Ltd beskriver et desinfiserende preparat omfattende en sporsteriliserende dose av etanol og laurinsyremonoglyserid som aktive ingredienser. Desinfiseringsmiddelet kan finne bruk for sterilisering av næringsmiddel, råvarer og overflater av matvareforedlingsapparater. Søknaden vedrører sprøyting av desinfeksjonsmiddelet på overflatene som skal rengjøres. Desinfeksjonsmiddelet har høy lagringsstabilitet og steriliserer effektivt sporer. Preparatet omfatter 5-80 vekt% etanol, 0,3-7 vekt% laurinsyremonoglyserid og vann. En eksempelpreparatet omfattet 59% etanol, 38,1 % vann, 0,5 % laurinsyremonoglyserid, 2,2 % melkesyre og 0,2 % natriumlactat, hvilket resulterer i en blanding med en pH på 4,27.

Den utbredte forekomst av helsetjenester som er assosiert med diaré, forårsaket av *Clostridium difficile* og den nylige forekomst i De Forenede Stater av humane infeksjoner av *Bacillus anthracis* (11 tilfeller av antraksinaleringer og 11 tilfeller av kutan antraks) som et resultat av den intensjonelle eksponering for *Bacillus anthracis* via kontaminerte brev, har ført til bekymring angående aktiviteten av antiseptiske og desinfiserende midler mot sporedannende bakterier. Mer nylig pådro en laboratoriearbeider seg antraks som et resultat av kontakt med overflaten til reagensrør inneholdende *Bacillus anthracis* (Page et al., 2002). Ingen av midlene som tidligere er rapportert i faget (inkludert alkoholer, klorheksidin, heksaklorofen, jodoforer, PCMX og triklosan), enten anvendt i antiseptiske (håndvask eller håndskrubbe) preparater eller i desinfeksjonsmidler for fast overflate, er pålitelig sporedrepene mot arter av *Clostridium* eller arter av *Bacillus* (Boyce og Pittet, 2002). Videre har noen av disse midlene (f.eks. triklosan) blitt koblet til antibiotikaresistente bakterier i laboratorietester. Eksempler på sporedrepene reagenser, ved anvendelse av relativt høye konsentrasjoner, inkluderer glutaraldehyd, formaldehyd, forbindelse av kloroksysyrer, peroksysyrer og etylenoksid. Generelt anses alle disse forbindelsene å være toksiske. På den andre side er alle de kjemiske antimikrobielle midlene som tidligere er rapportert i faget (enten de er sporedrepene eller ikke), inkludert sterilisering med etylenoksid, etanol, formalin, beta-propiolakton, detergenter, kvarternære ammoniumforbindelser, desinfiserende løsning med lysol (Reckitt Benckiser, Berkshire, UK) alkoholisk jod, aceton, kaliumpermanganat,

hydrogenperoksid og klordioksid, ineffektive til å inaktivere infektiviteten av konformasjonsendrede, infeksiøse prioner (Rosenberg et al. 1986) og deres effekt på kjemiske krigføringsmidler er ikke rapportert.

Trusler fra terrorister som involverer kjemiske og biologiske midler i sammenheng med masseødeleggingsvåpen, er av stor bekymring for nasjonalt forsvar og lokal lovhåndhevelse. I flere tiår fantes disse bekymringene i det stille hos De Forenede Staters militære og nasjonale våpenlaboratorier, finansiert av energidepartementet eller the Defense Advanced Research Projects Agency. Forskere sier at fremtidige bioterrorvåpen kunne inkludere genetisk konstruerte patogener, prioner og bioregulatorer (Brown, 2004). Under et simulert angrep med skitten bombe våren 2003 i Seattle var én av erfaringene at de angrepne ikke hadde noe å stoppe spredningen av radioaktivt støv med (Weiss, 2005). På samme måte, om et terroristangrep skulle forekomme, er spredningen av biologiske og kjemiske krigføringsmidler også meget vanskelig, om ikke umulig å begrense ved anvendelse av den tidligere teknologien. Skulle et storskala-angrep finne sted, vil dets gjerningsmenn trolig måle hastigheten og effektiviteten av opprensingen for å avgjøre verdien av å sette i gang et annet angrep. Antraksdekontamineringen av Hart Senate Office Building (Hsu, 2002) ved anvendelse av klordioksid har gitt bekymringer angående beredskapen ved håndtering av biologiske angrep i stor skala. Klordioksid og natriumhypokloritt (husholdningsblekemiddel) anvendes for desinfisering av overflater i miljøet og anvendes ikke som antiseptika anvendt på hud.

U.S. patentskrift nr. 6 566 574 til Tadros et al. viser anvendelse av en vandig formulering for nøytralisering av både kjemiske og biologiske midler. Formuleringen omfatter minst to solubiliseringsmidler (en kationisk surfaktant, slik som kvartærnære ammoniumssalter og en kationisk hydrotrop, slik som tetrapentyl-ammoniumbromid), minst én reaktiv forbindelse og vann for å produsere en vandig formulering. De tekniske problemene som er assosiert med denne teknologien, inkluderer: (1) behovet for en forskjellig formulering for hvert spesifikke kjemikalie og biologiske middel, (2) den har ingen effekt på infeksiøse prioner, (3) den kan ikke anvendes på levende vev, f.eks. topisk behandling på hud som følge av korrosiviteten og toksisiteten av de anvendte reagenser, (4) den kan ikke anvendes for å dekontaminere matprodukter i tilfelle av et landbruksterroristangrep, fordi de anvendte reagenser ikke er av matkvalitet (GRAS), og (5) det kan ikke anvendes i helsetjenestefasiliteter som et håndrengjøringsmiddel for å erstatte såpe og vann.

US patentsøknad publikasjonsnr. 2004/0022867 til Tucker et al. viser anvendelse av en vandig formulering for nøytralisering av giftstoffer som omfatter minst to solubiliseringsmidler (en kationisk surfaktant og en kationisk hydrotrop), en reaktiv forbindelse (valgt fra gruppen bestående av hydrogenperoksid, ureahydrogenperoksid, hydroperoksykarbonat, pereddiksyre, natriumperborat, natriumperoksyprofosfat, natriumperoksy-silikat og perkarbonat), en blekemiddelaktivator og et absorpsjonstilsetningsstoff. De

tekniske utfordringene som er assosiert med denne teknologien, inkluderer: (1) fremstilling av preparatet i området for følge av ustabiliteten av blekemiddelaktivatoren, (2) kort lagringstid (omtrent 8 timer), det kan derfor ikke anvendes i helsetjenestefasiliteter som et håndrengjøringsmiddel for å erstatte såpe og vann, (3) har ingen effekt på infeksjøs prioner, (4) det kan ikke anvendes på sår, f.eks. topisk behandling på skadet hud som følge av korrosiviteten og toksisiteten av de anvendte reagenser, og (5) det kan ikke anvendes for å dekontaminere matprodukter i tilfelle landbruksterroristangrep, fordi reagensene som er anvendt ikke er av matkvalitet (GRAS).

Samlet har den tidligere kunnskap anerkjent det reelle og fortsatte behov for en enkel formulering som er effektiv, generell, sikker for mennesker og miljøet og enkel å anvende for dekontaminering av både ikke-levende objekter og levende vev fra skadelige kontaminanter, bestående av kjemisk krigførings- (VX, sennepsgass, sarin, soman og tabun) toksiner, insekter (f.eks. sykdomsvektorer) og patogener, infeksjøs midler, slik som bakterier, sopp, virus, sopp- og bakteriesporer og konformasjonsendrede prioner (CJD, CWD, BSE, scrapie).

Det er et mål ifølge foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe preparater og fremgangsmåter for rengjøring av et materiale. Disse og andre mål vil bli stadig mer tydelig med referanse til den følgende diskusjonen.

Oppsummering av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en ikke-terapeutisk fremgangsmåte for rengjøring av et materiale som omfatter:

- a) å tilveiebringe et vandig preparat som omfatter en blanding av en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer og et fettsyrederivat som er en alkali- eller jordalkalimetallsalt av en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer eller et glyserid som omfatter en glyseroldel festet med en esterbinding til én eller flere fettsyrer som har fra 4 til 22 karbonatomer ved en pH på 14 eller høyere, hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet;
- b) å påføre preparatet til materialet i en effektiv mengde for å rengjøre materialet; og
- c) eventuelt å fjerne et resulterende preparat i trinn (b).

I en annen utførelsesform tilveiebringer foreliggende oppfinnelse et preparat som omfatter i en blanding:

- a) en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer; og
- b) et fettsyrederivat som er et alkali- eller jordalkalimetallsalt av en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer eller et glyserid som omfatter en glyserol-del festet med en esterbinding til én eller flere fettsyrer som har fra 4 til 22 karbonatomer

løselig i alkanolet,

hvor preparatet har en pH på 14 eller høyere, og hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet.

5 I en annen utførelse tilveiebringer foreliggende oppfinnelse en fremgangsmåte for fremstilling av et preparat, som omfatter:

a) å tilveiebringe en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer;

b) å tilveiebringe et fettsyrederivat som er et alkali- eller jordalkalimetallsalt av en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer eller et glyserid som omfatter en glyseroldel festet ved en esterbinding til én eller flere fettsyrer som har fra 4 til 22 karbonatomer løselig i alkanolet; og

c) å blande det lavere alkanol- og fettsyrederivatet for å tilveiebringe preparatet, hvor preparatet har en pH på 14 eller høyere og hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet.

15

I en annen utførelse tilveiebringer foreliggende oppfinnelse en fremgangsmåte for fremstilling av et preparat, som omfatter:

a) å tilveiebringe en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer;

b) å tilveiebringe en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer;

c) å tilveiebringe et alkalisk middel; og

d) å blande den lavere alkanolen, fettsyren og alkaliseringsmidlet for å tilveiebringe preparatet,

hvor preparatet har en pH på 14 eller høyere og hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet, idet fettsyrederivatet dannes fra fettsyren og

25

alkaliseringsmidlet.

Foretrukne utførelser er angitt i underkravene.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte for forbedring av de mikrobe- og sporedependende spektre og aktiviteter av lavere alkanoler (C₁-C₆) for desinfisering av levende vev (hud, hender osv.) og ikke-levende objekter (instrumenter, papir og trykte materialer, medisinsk utstyr, faste overflater, militære og sivile fasiliteter osv.) med uovertruffen hastighet, økonomi, sikkerhet, forsiktighet og varige anti-mikrobielle effekter. Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre et lavere alkanol- (C₁-C₆) som kan dekontaminere hud/sår etter eksponering for kjemisk og biologisk krigsførings(CBW)-middel for å inneslutte og ødelegge den CBW-forhindrende, kutane gjennomtrenging og videre kontaminering. Preparatet kan dekontaminere ferske produkter, slik som epler, babygulrøtter, jordbær, harde osteblokker, egg i skall og ferske skrotter med rødt kjøtt for å eliminere infeksjøs midler, slik som konformasjonsendrede

prioner, bakterier, sopp, parasitter og virus for å tilveiebringe de høyest mulige helsebeskyttelsesstandarder for forbrukerne. Enda videre kan preparatet anvendes for å dekontaminere biprodukter fra dyr som er anvendt i fôr, og kan derfor erstatte tradisjonelle tilpasningsteknikker. Enda videre kan preparatet anvendes for å dekontaminere hjem, bygningsmaterialer og møbler som er infisert med sporer av svart-sopp. Preparatet kan anvendes for insektvektorkontroll (f.eks. midd, mygg osv.) for å redusere overføringen av infeksjøs patogener. Enda videre inneholder preparatet materialer som er bekreftet som GRAS (generelt gjenkjent som sikker), f.eks. matkvalitet, for å beskytte mot mulig misbruk av forbrukeren.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer dermed en fremgangsmåte i henhold til krav 1.

I ytterligere utførelsesformer er fettsyren et natrium (Na)-, kalium (K)-, litium (Li)-, kalsium (Ca)- eller magnesium (Mg)-salt. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet et alkalisalt eller alkalisk jordmetallsalt av laurinsyre. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivater kaliumlaurat. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet en ester som er valgt fra gruppen bestående av en butylester, etylester, metylester, fettacyl-koenzym A, sukkroseester og et monoglyserid. I enda ytterligere utførelsesformer er toksinet et *Stachybotrys*-toksin. I ytterligere utførelsesformer er mikroorganismen eller annet infeksjøs middel en sopp, en bakterie, en soppspore, en bakteriespore, et virus eller et konformasjonsendret prion. I enda ytterligere utførelsesformer er soppsporen fra *Stachybotrys chartarum*. I enda ytterligere utførelsesformer er bakteriesporen fra *Bacillus atropheus*. I enda ytterligere utførelsesformer er det kjemiske krigsføringsmiddelet VX, sennepsgass, sarin, soman eller tabun. I enda ytterligere utførelsesformer velges det konformasjonsendrede prion fra gruppen bestående av CJD, CWD, BSE og scrapie.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer et preparat i henhold til krav 5. I ytterligere utførelsesformer foreligger preparatet i vandig løsning. I ytterligere utførelsesformer er den lavere alkanolen metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol eller blandinger derav. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyren et natrium (Na)-, kalium (K)-, litium (Li)-, kalsium (Ca)- eller magnesium (Mg)-salt. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet et alkalisalt eller alkalisk jordmetallsalt fra laurinsyre. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet kaliumlaurat. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet en ester som er valgt fra gruppen bestående av butylester, etylester, metylester, fettacyl-koenzym A, sukkroseester og et monoglyserid. I enda ytterligere utførelsesformer omfatter preparatet videre én eller flere ingredienser som er valgt fra gruppen bestående av fortykningsmidler, bløtgjørere, fuktiggjørere, korrosjonsinhibitorer, drivmidler, parfymer, smaksmidler, skumhemmere, antioksidanter og fargestoffer.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte for fremstilling av et preparat i henhold til krav 10. I enda ytterligere utførelsesformer er den lavere alkanolen

etanol. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyren et (Na)-, kalium (K)-, litium (Li)-, kalsium (Ca)- eller magnesium (Mg)-salt. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet et alkalisalt eller alkalisk jordmetallsalt fra laurinsyre. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet kaliumlaurat. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyrederivatet en ester som er valgt fra gruppen bestående av en butylester, etylester, metylester, fettacyl-koenzym A, sukroseester og et monoglyserid.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en fremgangsmåte for fremstilling av et preparat i henhold til krav 14. Den lavere alkanolen er etanol. I enda ytterligere utførelsesformer er fettsyren laurinsyre. I enda ytterligere utførelsesformer velges det alkaliserende middelet fra gruppen bestående av et alkalimetallhydroksid, alkalisk hydroksid av jordmetall, alkalimetall eller hydrogenkarbonater og blandinger derav. I enda ytterligere utførelsesformer velges det alkaliserende middelet fra gruppen bestående av ammoniumhydroksid, aluminiumhydroksid, natriumhydroksid, kaliumhydroksid, litiumhydroksid, kalsiumhydroksid, magnesiumhydroksid, natriumkarbonat, natriumhydrogenkarbonat og blandinger derav.

Kort beskrivelse av figurene

Figurene 1A-E viser effekten av forskjellige konsentrasjoner av preparat FB på drepingen av svartsopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporer. Figur 1A viser effekten av 100 % FB på reduksjonen av svartsoppsporer. Figur 1B viser effekten av 60 % FB på reduksjonen av svartsoppsporer. Figur 1C viser effekten av 50 % FB på reduksjonen av svartsoppsporer. Figur 1D viser effekten av 40 % FB på reduksjonen av svartsoppsporer. Figur 1E viser effekten av 30 % FB på reduksjonen av svartsoppsporer.

Figur 2 er en graf som viser effekten av forskjellige konsentrasjoner (30, 60 og 100 %) av preparat (FB) på drepingen av svartsopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporer.

Figur 3A-C viser effekten av forskjellige konsentrasjoner av husholdningsblekemiddelet Clorox på drepingen av svartsopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporer. Figur 3A viser effekten av 12,5 % NaOCl på drepingen av svartsoppsporer. Figur 3B viser effekten av 7,5 % NaOCl på drepingen av svartsoppsporer. Figur 3C viser effekten av 3,75 NaOCl på drepingen av svartsoppsporer.

Figur 4 viser effekten av forskjellige konsentrasjoner av klorblekemiddel (3,75, 7,5 og 12,5 % natriumhypokloritt) på drepingen av svartsopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporer.

Figur 5 viser effekten av preparatet (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox på tepper inokulert med sporer av *Stachybotrys chartarum*.

Figur 6 viser effekten av preparatet (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox på takfliser inokulert med sporer av *Stachybotrys chartarum*.

Figur 7 viser effekten av preparatet (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox på vanlig printerpapir inokulert med sporer av *Stachybotrys chartarum*.

Figur 8 viser veksten av svartsopp på tepper inokulert med sporer av *Stachybotrys chartarum* og inkubert i 30 dager i mørket.

Figur 9 viser veksten av svartsopp på vanlig printerpapir inokulert med sporer av *Stachybotrys chartarum* og inkubert i 30 dager i mørket.

5 Figur 10 viser veksten av svartsopp på takfliser inokulert med sporer av *Stachybotrys chartarum* og inkubert i 30 dager i mørket.

Figur 11A-F viser effekten av å spraye preparat FB på tre etter inokulering av treet med svartsopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporer. Figurene 11A og 11B viser inokuleringen av svartsoppssporene på tre som det porøse materialet. Figurene 11C og 11D viser virkningen av 50 % FB sprayet på tre. Figurene 11E og 11F viser effekten av 1,84 % natriumhypokloritt sprayet på tre.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Uttrykket "CFU" som anvendt her, refererer til kolonidannende enheter.

15 Uttrykket "behandle" som anvendt her, er et vidtfavnende uttrykk som betyr å dekke, forandre, endre, variere og/eller modifisere et materiale slik at materialet forandres i ett eller flere aspekter fra startmaterialet. Uttrykket kan referere til en fysisk og/eller kjemisk forandring, inkludert de som resulterer fra en kjemisk reaksjon, solubilisering og/eller emulsifisering, er også omfattet av uttrykket.

20 Uttrykket "FB" som anvendt her, refererer til en utførelsesform av preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse, som fremsatt i tabell 1.

Uttrykket "materiale" som anvendt her, refererer til hvilket som helst fast stoff, væske og/eller gassaktig materiale, slik som luft, et kjemikalium, en ikke-levende overflate, levende vev, jord eller en atmosfære.

25 Uttrykket "rengjøre" som anvendt her, refererer til reduksjon eller eliminering av nivået eller skadeevne av middelet som er i stand til å være skadelig for helsen til et levende dyr. Noen eksempler på midler som er i stand til å være skadelige for helsen til et levende dyr, er kontaminanter, slik som toksiner, kjemiske krigføringsmidler, insekter, prioner, mikroorganismer eller andre infeksjøs midler. Eksempler på rengjøring inkluderer kjemisk 30 modifisering og degradering, fjerning av midlene ved solubilisering er imidlertid også omfattet av uttrykket.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer preparater og fremgangsmåter for å forbedre dekontamineringseffekten av lavere alkanoler inneholdende 1 til 6 karbonatomer (C₁-C₆) for rengjøring av materialer, slik som levende vev, hud, hender osv. og ikke-levende 35 objekter (instrumenter, medisinsk utstyr, militære og sivile fasiliteter, møbler, papir og trykte materialer osv.). Av skadelige kontaminanter, slik som kjemiske krigføringsmidler (VX, sennepsgass, sarin, soman og tabun), toksiner, protozoer, insekter (f.eks. sykdomsvektorer og patogene infeksjøs midler, slik som bakterier, sopp, virus, sopp- og bakteriesporer og konformasjonsendrede prioner (CJD, CWD, BSE, scrapie). Den vedvarende

utfordring i utvikling av nye mikrobedrepende midler er å finne en balanse mellom sikkerhet, brukervennlighet og effektivitet. Brukervennligheten og sikkerheten er like viktige, og noen ganger mer viktig enn å anvende de mest effektive, kjemiske teknologiene. Bakteriesporer, sopp- og infeksjonsprioner er meget resistente mot kjemiske og fysiske desinfeksjonsmidler. Prosesser som er utformet for å oppnå sterilisering av mat, farmasøytika, medisinske og andre produkter, har dermed av nødvendighet måttet ta hensyn til dette høye motstands nivået. Fra dette skjema kan det forutses at aktivitet mot de mer resistente infeksjonsmidlene (f.eks. sporer av *Bacillus atrophaeus*) og infeksjonsprioner, impliserer aktivitet mot de minst motstandsdyktige infeksjonsmidlene (f.eks. vegeterende bakterier, lipidvirus).

US patentsøknad publikasjonsnr. 20005/0202137 (søknadsnummer 11/031935) til Awad viser en fremgangsmåte for behandling av biologisk vev, spesielt kjøtt for humant forbruk for rengjøring av vevet. Fremgangsmåten inaktiverer mikroorganismer og patogene prioner (proteiner i vevet). Fremgangsmåten for å rengjøre omfatter behandling av vevet med en vandig løsning som er valgt fra gruppen bestående av alkalimetallydroksid, hydroksid av alkalisk jordmetall og blandinger derav og en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer, slik at alle prioner er i kontakt med løsningen, inaktiveres. Foreliggende oppfinnelse beskriver en fremgangsmåte for forbedring av de dekontaminerende egenskapene til lavere alkanoler C₁-C₆ ved å blande dem med GRAS-bestanddeler som i det vesentlige omfatter fettsyrederivater, alkaliserende midler, vann og blandinger derav. Alternativt kan ett eller flere ingredienser velges fra gruppen bestående av fortykningsmidler, bløtgjørere, fuktemidler, korrosjonsinhibitorer, skumdempere, smaksmidler, drivmidler, parfymer, antioksidanter og fargestoffer, tilsettes. De resulterende preparatene kan anvendes for å desinfisere levende vev (hud, hender osv.) og ikke-levende objekter (instrumenter, medisinsk utstyr, militære og sivile fasiliteter, møbler, papir og trykte materialer osv.) fra skadelige kontaminanter bestående av kjemiske krigføringsmidler (VX, sennepsgass, sarin, soman og tabun), toksiner, protozoer, insekter (dvs. sykdomsvektorer) og patogene infeksjonsmidler, slik som bakterier, sopp, virus, sopp- og bakteriesporer og konformasjonsendrede prioner (CJD, CWD, BSE, scrapie).

Aktiviteten til preparatene er videre beholdt i en betydelig tid etter fordampingen av løsemiddelet. Ved et biologisk våpenangrep må det første skritt være å forhindre videre spredning av patogenene. Immobilisering av biologiske krigføringsmidler (f.eks. bakteriesporer osv.) kan også tillate redningsmannskap å gjøre sin jobb uten å bli kontaminert. Et meget viktig aspekt ifølge foreliggende oppfinnelse er at filmen som er et resultat etter fordampingen av løsemiddelet, fysisk vil fange bakterie- eller sopp- og derfor forhindre resuspensjonen av sporer som er en hovedårsak til infeksjonsoverføring og kontaminering av omgivelsenes overflater. Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse kan meget enkelt fremstilles ved enkel blanding av målte mengder av de nødvendige bestanddeler med de lavere alkanoler, fulgt av hvilke som helst alternative ingredienser og pakking.

De lavere alkanolene (C₁-C₆) som er nyttige i foreliggende oppfinnelse, velges fra gruppen bestående av metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol og blandinger derav, som er til stede i en mengde på fra omtrent 3 og 95 %. Etanol eller isopropanol er mest foretrukket. Eksempler på passende fettsyrederivater som ville være nyttige for foreliggende oppfinnelse, inkluderer salter av alkalimetall og alkalisk jordmetall (Na, K, Li, Mg osv.) av fettsyrer inneholdende 4 til 22 karbonatomer. Andre fettsyrederivater som er nyttige her, inkluderer esterderivater, slik som butyl-, etyl-, metylestere, fettacyl-koenzym A, sukroseestere og glyserider av en ønsket fettsyre.

Inkluderingen av fettsyrederivatene i mengder fra 0,1 vekt% til omtrent 25 vekt%, spesielt fra 5 til 10 vekt% har vanligvis blitt observert å være nyttige. Laurinsyrederivater er mest foretrukket.

I noen foretrukne utførelsesformer velges de alkaliserende midlene fra gruppen bestående av ammoniumhydroksid, aluminiumhydroksid, hydroksider av alkalimetall (Na, K, Li), hydroksider av alkalisk jordmetall (Ca, Mg), karbonater av alkalimetall eller hydrogen, f.eks. natriumkarbonat eller natriumhydrogenkarbonat eller blandinger derav. Vanligvis kan kvantiteten av de alkaliserende midlene variere fra 0,01 vekt% til 10 vekt% og mest foretrukket innen området på 3 til 6 vekt%, f.eks. 5 vekt%.

Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse inkluderer vann som løsemiddel og mest foretrukket deionisert vann. Kvantiteten av vann kan variere fra omtrent 5 til 95 vekt% og mest foretrukket innen området på 15 til 60 vekt%. Preparatene kan alternativt inkludere fortykningsmidler som er valgt fra gruppen bestående av høydispers silika, xantangummi, pektin, guar gummi, hydroksyl-propylcellulose, gelatin, naturlige gummier, polyetylenglykol, polypropylenglykol, karboksypolymetylen, akrylater/C10-30, krysspolymer av alkylakrylat og vannløselige vokser, slike ingredienser kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde. Preparatene kan også alternativt inkludere én eller flere korrosjonshemmere. Eksempler på passende korrosjonshemmere inkluderer mono- og trietanolamin, disykloheksyl-amintritt og N,N-dibenzylamin, og slike ingredienser kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde.

Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse kan alternativt formuleres med bløtemidler og/eller fuktemidler. Bløtgjørere og/eller fuktiggjørere som kan anvendes, er velkjente og vanlige i faget, og inkluderer propylenglykol, isopropylmuristat, glyserin, acetamidopropyl-trimoniumklorid. Slike ingredienser kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde. Preparatene kan også alternativt formuleres med konvensjonelle drivmidler for utporsjonering som aerosoler for vanlige trykkbeholdere. Eksempler på passende drivmidler inkluderer isobuten, n-butan, propan, dimetyleter og blandinger derav, slike ingredienser kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde. I tillegg kan preparatene alternativt inkludere én eller flere parfymmer. Hvilket som helst materiale som tilveiebringer en ønsket duft, kan anvendes. Spesielt foretrukket er oljer som er avledet fra sitrusfrukt,

f.eks. appelsin, sitron, lime osv., som inneholder store mengder terpenener. Slik ingrediens kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde.

Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse kan alternativt inkludere én eller flere skumdempere. Eksempler på passende skumdempere inkluderer silikon (f.eks. polydimetyl-
5 siloksan), C_8 til C_{18} alifatisk alkohol eller C_9 til C_{12} -alkyl-substituert fenol eller en blanding derav. Preparatene kan også alternativt inkludere én eller flere antioksidanter. Eksempler på passende antioksidanter inkluderer tokoferoler (f.eks. vitamin E eller tokoferolacetat), vitamin C og blandinger derav. Ingrediensene kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde. Preparatene kan også alternativt inkludere ett eller flere fargestoffer. Eksempler på
10 passende fargestoffer inkluderer pH-avhengige fargestoffer (f.eks. det blå fargestoffet tymoftalein), ikke-flekksettende fargestoff, og slike ingredienser kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde. Preparatene kan også alternativt inkludere ett eller flere smaksmidler. Hvilket som helst materiale som tilveiebringer en ønsket smak kan anvendes, og ingrediensene kan inkluderes i hvilken som helst effektiv mengde.

15 Foreliggende oppfinnelse innlemmer den kombinerte effekten av visse GRAS-bestanddeler på den dekontaminerende aktivitet av lavere alkanoler C_1 - C_6 med den hensikt å forbedre de mikrobedepende og spordrepende spektre og aktiviteter av disse alkanolene. Konstituenten som er testet i eksemplene her, ble valgt ut fra hensynet til sikkerhet og inkluderer fettsyrederivater, alkaliserende midler, vann og blandinger derav. Alternativt er
20 ett eller flere ingredienser valgt fra fortykningsmidler, bløtgjørere, fuktgjørere, korrosjonsinhibitorer, drivmidler, parfymen, smaksmidler, skumdempere, antioksidanter og fargestoffer også inkludert i preparatet. Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse angriper patogener ved flere punkter i deres livssykluser med mer enn én antimikrobiell forbindelse. De antimikrobielle forbindelsene inaktiverer patogener som ikke virker kun individuelt, men også
25 virker additivt og synergistisk. Preparatene som er beskrevet her, er ikke-korrosive, ikke-toksiske og kan inkorporeres i mange forskjellige bærere. De kan derfor pakkes i aerosolform i vanlige aerosolbeholdere, tåkegenererende innretninger eller i væskeform i sprayflasker med utløserpumper og klemmeflasker (væske/gel). De kan impregneres i småhåndklær (vevd eller ikke-vevd av natur) og pakket individuelt eller pakket flere sammen for
30 individuell utporsjonering for å tilfredsstille mange forskjellige anvendelsesmuligheter.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer en vandig formulering for å forbedre de dekontaminerende egenskapene til lavere alkanoler C_1 - C_6 for desinfisering av levende vev og ikke-levende objekter fra skadelige kontaminanter. Preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse inkluderer lavere C_1 - C_6 -alkanoler, inkluderer metanol, etanol, n-propanol,
35 isopropanol, n-butanol og blandinger derav som er til stede i en mengde fra omtrent 3 og 95 %. Etanol eller isopropanol er mest foretrukket. Preparatet inkluderer også fettsyrederivater, inkludert, men ikke begrenset til, alkalimetallsalter og salter av alkaliske jordmetaller (Na, K, Li, Mg osv.) av fettsyrer som har 4 til 22 karbonatomer og blandinger derav. Andre nyttige fettsyrederivater inkluderer esterderivater, slik som butyl-, etyl- og metylestere, fettacyl-

koenzym A, sukkroseestere og glyserider av en ønsket fettsyre. Vanligvis har inkluderingen av fettsyrederivater i mengder fra 0,1 vekt% til 25 vekt%, spesielt fra 5 til 10 vekt% er blitt observert å være nyttig. Laurinsyrederivater er mest foretrukket. Alkaliserende midler inkluderer ammoniumhydroksid, aluminiumhydroksid, alkalimetallhydroksider (Na, K, Li),
 5 hydroksider av alkaliske jordmetaller (Ca, Mg), eller hydrogenkarbonater av alkalimetaller, f.eks. natriumkarbonat eller natriumhydrogenkarbonat eller blandinger derav. Generelt kan kvantiteten av de alkaliserende midlene variere fra 0,01 vekt% til 10 vekt% og mest foretrukket innen området fra 3 til 6 vekt%, f.eks. 5 vekt% og alternativt, ett eller flere bestanddeler valgt fra gruppen bestående av fortykningsmidler, bløtgjørere, fuktgjørere,
 10 korrosjonsinhibitorer, drivmidler, parfymer, smaksmidler, skumdempere, antioksidanter og fargestoffer.

De skadelige kontaminantene som virkes på av foreliggende oppfinnelse inkluderer kjemiske krigføringsmidler (VX, sennepsgass, sarin, soman og tabun), toksiner, insekter (f.eks. sykdomsvektorer) og patogene, infeksiose midler, slik som bakterier, sopp, virus,
 15 sopp- og bakteriesporer og konformasjonsendrede prioner (CJD, CWD, BSE, scrapie). De ikke-levende objektene som virkes på inkluderer instrumenter, medisinsk utstyr, militære og sivile fasiliteter, møbler, papir og trykte materialer osv., rustfritt stål, plastikk, glassfiber, keramikk, marmor, emalje og porselen.

I noen utførelsesformer er løsemiddelet vann. I ytterligere utførelsesformer er
 20 alkanolen etanol. I noen utførelsesformer er løsemiddelet etanol. I ytterligere utførelsesformer er kontaminanten et kjemisk krigføringsmiddel, biologisk krigføringsmiddel, protein (f.eks. infeksiose prioner), et toksin (f.eks. *Stachybotrys*-toksiner, et botulinum), et insekt (f.eks. sykdomsvektorer), et patogent, infeksionst middel, slik som bakterier, sopp, virus), en soppspore (f.eks. *Stachybotrys chartarum*) eller en bakteriespore (f.eks. spore fra *Bacillus atropheus*).
 25 I ytterligere utførelsesformer er kontaminanten på en overflate, i atmosfæren, i jordsmonnet, på medisinske og kirurgiske instrumenter, på matprodukter, i dyrefôr, i papir og trykte materialer, på militærutstyr eller i levende vev, inkludert, men ikke begrenset til hud, hender, muskler, biologiske vev av dyre- og planteopprinnelse.

De følgende eksemplene er ment å fremme en ytterligere forståelse av foreliggende
 30 oppfinnelse. Preparatene ifølge oppfinnelsen er illustrert ved eksempler av spesifikke formuleringer som beskrevet nedenfor.

Eksempel 1

35 **Tabell 1:**

Komponent	Preparat	Mengde
Alkanol (ml):	Etanol	62
Fettsyre (g):	Laurinsyre	10
Alkaliserende middel (g):	Kaliumhydroksid	3,5

Vann (ml):	Deionisert	26
pH:		14,42

Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

Den følgende oppsummering av resultater og data er basert på tester som er utført på svartsoppssporene ved anvendelse av preparatet (FB) ifølge tabell 1. *Stachybotrys chartarum*, vanlig kjent som "svart hussopp", er blitt et hovedproblem i hjem og kontorbygninger, og koster bygnings- og forsikringsindustrien milliarder av dollar hvert år. Soppen gror best på celluloseinnholdende materialer, slik som papir, sponplater, tre og gipsplater, i fuktige, varme omgivelser, slik som hjem som tidligere er blitt utsatt for vannskade fra kondensering, lekkasje og oversvømmelse. Det er nester 120 millioner husholdningsenheter og 5 millioner kommersielle bygninger i De Forenede Stater som er potensielt utsatt for denne vannskaden. Individer som har kommet i kontakt med *Stachybotrys*-kontaminert gress eller korn og blitt funnet å være infisert, manifesterer symptomer, slik som dermatitt, smerte og betennelse i slimhinnene i munnen og halsen, en sviende følelse fra neseåpningene, tetthet brystet, hoste, blodig snørr, feber, hodepine, utslett og utmattelse. De som inntok kontaminert korn, rapporterte en brennende følelse i munnen, kvalme, oppkast, diaré og magesmerte. *Stachybotrys* har blitt implikert i både "syk bygning-syndrom" og blødning fra lunge hos spedbarn. Denne soppen produserer flere av trikotecen-mykotoksiner, blant hvilke er satratoksiner (G, F og H), roridin, trikotermol og trikoverrol. Selv om virkningsmåten av satratoksin ikke er godt forstått, er den antatt å være en immunundertrykker selv med meget lave konsentrasjoner, så vel som en potent proteinsynteseinhibitor. Løsningen involverer typisk sanering og fjerning av arealer som er kontaminert med *Stachybotrys*. Ødeleggelse av denne sopp og dens toksiner med preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse vil i stor grad redusere løsningskostnader.

Soppsporefremstilling: Sporer av *Stachybotrys chartarum* som ble bestemt å være meget toksiske, og satratoksinekstrakter med kjent konsentrasjon av satratoksin (ng/g) ble anvendt i dette eksperimentet. En kjent konsentrasjon av sporer fra *Stachybotrys* ble subkultivert på agarplater med potetdekstrose (PDA) eller agarplater med maltekstrakt (MEA). Platene ble inkubert i mørket ved romtemperatur (26 °C) i fem til syv (5-7) dager inntil konfluent vekst ble oppnådd. Sporer ble samlet med fosfatbufret saltløsning (PBS), pH 7,0, med en sluttkonsentrasjon på 10^5 og 10^7 sporer/ml fra fosfatbufret saltløsning (PBS).

Bestemmelse av behandlingseffektivitet: Sporer. Ni milliliter (ml) av preparatet (FB) ble inokulert med én milliliter (1 ml) sporekonsentrat. Initiell sporekonsentrasjon var $10^{6,65}$ -kolonidannende enheter per ti milliliter (CFU/10 ml)-løsning. Prøveuttak ble utført i sterile reagensrør. Rørene ble ristet kraftig, tre ganger per minutt i de første ti minuttene, og deretter én gang hvert femte minutt i totalt ti (10), tretti (30) og seksti (60) minutter. Rørene ble så tømt og renses tre ganger med deionisert vann (5 ml) i fem minutter

(5 min.) hver, på den samme måte som behandlingen ble utført. Løsninger fra hver behandling ble kombinert. Positive (sporer inokulert uten eksperimentelle behandlinger) og negative (eksperimentelle behandlinger uten sporer) kontroller ble inkludert. Ett hundre mikroliter (μl) fra den kombinerte løsningen av hver behandling ble utsådd og dyrket på PDA-plater ved romtemperatur i mørket i syv dager. Denne fremstillingen ble gjentatt tre ganger. Sporer ble telt etter en uke.

Tre konsentrasjoner av preparatet (FB) ble anvendt (30 %, 60 % og 100 %). Fortynninger ble laget med destillert vann. Vandige løsninger på 3,75 %, 7,5 % og 12,5 % med klorinblekemiddelet natriumhypokloritt ble også anvendt. Behandlingsprøver ble tatt etter 0, 1, 5, 30 og 60 minutter. Fullstendig inhibering av sporevekst ble observert ved 30 % FB etter fem (5) minutter. Ingen vekst ble observert ved 60 og 100 % FB etter ett (1) minutt som illustrert i figur 2. Figurene 1A-E viser effekten av forskjellige konsentrasjoner av preparatet FB på drepingen av svartsopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporer. Figur 1A viser effekten av 100 % FB på reduksjonen av svartsoppssporene. Figur 1B viser effekten av 60 % FB på reduksjonen av svartsoppssporene. Figur 1C viser effekten av 50 % FB på reduksjonen av svartsoppssporene. Figur 1D viser effekten av 40 % FB på reduksjonen av svartsoppssporene. Figur 1E viser effekten av 30 % FB på reduksjonen av svartsoppssporene.

Når det gjelder klorinblekemiddel, ble fullstendig inhibering av sporevekst observert for alle tre anvendte konsentrasjoner av deteregent (3,75 %, 7,5 % og 12,5 % natriumhypokloritt) etter ett (1) minutt som illustrert i figur 4. Figurene 3A-C viser effekten av forskjellige konsentrasjoner av husholdningsblekemiddelet Clorox på drepingen av sporer av svartsopp (*Stachybotrys chartarum*). Figur 3A viser effekten av 12,5 % NaOCl på drepingen av svartsoppssporene. Figur 3B viser effekten av 7,5 % NaOCl på drepingen av svartsoppssporene. Figur 3C viser effekten av 3,75 % NaOCl på drepingen av svartsoppssporene.

Resultatene fra disse testene indikerer tydelig at preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse er meget effektivt i dekontamineringen av svartsoppssporene. Det er også klart at blekemiddel er en meget effektiv dekontaminant. Hovedhensikten for å finne en erstatning for blekemiddel er på grunn av dennes høye korrosivitet og ikke dens manglende evne til å drepe mikroorganismer. Preparatet (FB) ble så ytterligere optimalisert og løsninger på 30 %, 40 %, 50 % og 60 % ble anvendt for å teste for den optimale konsentrasjonen som vil forhindre sporevekst i løpet av ett (1) minutt. Prøver ble tatt etter ett og fem minutter. Vekst ble observert etter fem (5) minutter ved konsentrasjonen på 30 % som tidligere observert. Konsentrasjonen på 40 % inhiberte vekst etter fem (5) minutter, og både konsentrasjonene på 50 % og 60 % inhiberte vekst etter ett (1) minutt som ses i tabell 2. Ved dette punkt ble en 50 % fortynning valgt som den optimale konsentrasjon av preparatet (FB) som vil inhibere sporer innen et minutt, og denne konsentrasjonen ble anvendt i videre studier på bygningsmaterialer.

Tabell 2: Effekt av forskjellige konsentrasjoner av preparatet (FB) på reduksjonen av svartopp (*Stachybotrys chartarum*)-sporantall med tid (log CFU/10 ml).

Behandling	Sporeantall 0 min	Sporeantall 1 min	Sporeantall 5 min
Kontroll	5,8	5,8	5,8
30 % FB	5,8	4,75	3,7
40 % FB	5,8	3,3	0
50 % FB	5,8	0	0
60 %	5,8	0	0

5 *Bestemmelse av behandlingseffektivitet: Bygningsmaterialer.* Preparatet er også blitt vist å være effektivt i dekontaminering av forskjellige substratoverflater. Tre forskjellige materialer ble tilveiebrakt fra Home Depot, Home Improvement Center (Homer TLC, Inc. Claymont, Delaware): 1) teppe (Journey's End Loop Harbor Lig), 2) takflis, 3) vanlig printepapir (hvitt) og 4) tre. Prøvene ble skåret i to tommers kvadrater, bløtgjort over natt i
10 milliliter (10 ml) deionisert vann og sterilisert ved autoklaving i én time ved 121 °C. De steriliserte materialene ble tillatt å avkjøle og ble delt i to sett. Det første settet av steriliserte materialer ble inokulert med 100 µl sporesuspensjon (10^7 sporer/10 ml løsning) og ble tillatt å lufttørke i avtrekk i tretti minutter, så sprayet med henholdsvis omtrent 1 ml vann (kontroll), preparatet (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox (Clorox
15 Company, Oakland, CA) og inkubert ved romtemperatur i mørket i tretti (30) dager. Etter 30 dager ble vekst observert i alle kontrollbehandlinger (materialer behandlet med vann). Vekst ble ikke observert på materialene som ble behandlet med enten preparatet (50 % FB) eller husholdningsblekemiddelet Clorox (figur 5, figur 6, figur 7 og figurene 11A-F). Det andre settet av steriliserte materialer ble inokulert med 100 µl av den samme konsentrasjonen av
20 sporesuspensjon (10^7 -sporer/10 ml løsning) og inkubert ved romtemperatur i mørket i tretti dager. Vekst ble observert i alle prøver og vekst på prøvene var i den følgende rekkefølge: takflis > teppe > papir (figur 8, figur 9 og figur 10). Disse prøvene ble så dyppet i henholdsvis tretti milliliter (30 ml) vann (kontroll), preparatet (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox i fem minutter (5 min), og de ble tillatt å lufttørke i avtrekk i 1,5 timer. Satratoksinet
25 ble ekstrahert med 10 milliliter (10 ml) metanol. Ekstrakter på omtrent fire milliliter (4 ml) ble tillatt å lufttørke over natt i avtrekk til et sluttvolum på omtrent 1,5 ml. En minimums-mengde (100 µl) fra hver prøve ble resuspendert i 900 µl deionisert vann og 8 µl av hver behandling/suspensjon ble anvendt forgjærtoksisitetsanalysen.

Gjærtoksisitetsanalyse: Kulturer av *Kluyveromyces marxianus* (nr. 8554, ATCC, Manassas, VA) ble dyrket ved 37 °C og lagret ved 4 °C på gjær-pepton-glukose (YPG)- agar
30 (1 % (vekt/volum) gjærekstrakt, 1 % (vekt/volum) bakteriologisk pepton, 2 % (vekt/volum) glukose og 2 % (vekt/volum) agar). For analysen ble en enkeltkoloni fra en

agarplate tilsatt til 5 ml væskemedium av YPG-50 (1 % (vekt/volum) gjærekstrakt, 1 % (vekt/volum) bakteriologisk pepton og 50 mM glukose) i et dyrkningsrør. Røret ble inkubert i en rotasjonsinkubator i omtrent seksten (16) timer ved 37 °C for å tilveiebringe en kultur med slutt-tetthet på 1×10^8 celler/ml i YPG-50. YPG-50 ble supplementert med en

5 stamløsning av polymixin-b-sulfat (PMBS) (ICN Biomedicals, Aurora, Ohio) for å gi en sluttkonsentrasjon på femten milligram per milliliter (15 mg/ml) for bioanalysefremstillingen. Testene ble kjørt i triplikat. For bioanalysefremstillingen ble 136 mikroliter (μl) av PMBS-supplementert YPG-50-medium tilsatt til brønnene i en 96-brønners polystyren-mikrotiter-plate. Åtte mikroliter ($8 \mu\text{l}$) av testen eller kontrollprøven ble tilsatt til hver brønn, fulgt av

10 seksten mikroliter ($16 \mu\text{l}$) med gjærinokulum for å gi en initiell celletetthet på omtrent 1×10^8 celler/ml. Blanke brønner (negativ kontroll) inneholdt 152 μl medium og 8 μl vann. Kontroll-brønner (positiv kontroll) inneholdt 144 μl medium og 16 μl gjærinokulum. Platene ble forseglet og inkubert på en platerister ved 37 °C i åtte timer (når cellene nådde stasjonær fase). Celletetthet ble målt hver andre

15 time ved å måle absorbansen i en mikrotiterplateleser ved en bølgelengde på 570 nm. Absorbansen ble korrelert med vekstkurven til *K. marxianus* ved 8 timer for å bestemme celletetthet. Disse kulturrene er sensitive for trikotesenmykotoksiner og vil ikke vokse i nærvær av meget små kvantiteter (100-200 ng/ml). En høy optisk tetthet (OD) vil være som et resultat av økt turbiditet som vil vise vekst av organismen, og en lav OD vil være en

20 følge av liten eller ingen vekst av organismen. OD-verdien fra alle behandlingene (medium + (preparat (50 % FB) eller behandling med husholdningsblekemiddelet Clorox) + gjærinokulum) var høyere enn av deres positive kontroller (medium + vannbehandling + gjærinokulum) ved alle prøvetidspunktene (0, 2, 4, 6, 5 og 8 timer). Dette viste at preparatet (50 % FB var i stand til å degradere toksinene i bygningsmaterialene innen fem

25 minutter (5 min), og metanolekstraherng av de detoksifiserte materialene ga dermed ikke noen spor av satratoksin, sammenlignet med de vannbehandlede prøvene (tabellene 3, 4, 5).

Tabell 3: Optisk tetthet (579 nm) av teppeprøver behandlet med preparat (50 % FB) og

30 husholdningsblekemiddelet Clorox (CB) etter soppvekst.

Tid (timer)	Positiv kontroll	Kontroll	50 % FB	CB
0	0,335	0,395	0,952	0,35
2	0,33	0,292	0,912	0,325
4	0,319	0,293	0,808	0,37
6,5	0,318	0,301	0,714	0,436
8	0,318	0,301	0,714	0,436

Tabell 4: Optisk tetthet (570 nm) av husholdningspapirprøver behandlet med preparat (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox (CB) etter soppvekst.

Tid (timer)	Positiv kontroll	Kontroll	50 % FB	CB
0	0,335	0,399	0,645	0,490
2	0,33	0,381	0,60	0,474
4	0,319	0,44	0,614	0,470
6,5	0,318	0,497	1,008	0,482
8	0,318	0,497	1,008	0,482

5 **Tabell 5:** Optisk tetthet (570 nm) av takflisprøver behandlet med preparat (50 % FB) og husholdningsblekemiddelet Clorox (CB) etter soppvekst.

Tid (timer)	Positiv kontroll	Kontroll	50 % FB	CB
0	0,335	0,318	0,811	0,472
2	0,33	0,296	0,895	0,456
4	0,319	0,350	0,798	0,530
6,5	0,318	0,424	0,699	0,596
8	0,318	0,424	0,699	0,596

Eksempel 2

- 10 Den antimikrobielle effekten på *Stachybotrys chartarum*-sporer ved anvendelse av preparater med forlaget fettsyresåper og fettsyresåper som er laget *in situ* ved nøytralisering av de frie fettsyrene med en overskuddsmengde av alkaliserende middel ble undersøkt.

15 **Tabell 6:**

Komponent (I)	Preparat (I)	Mengde (I)
Alkanol (ml):	Etanol	62
Fri fettsyre (mol):	Laurinsyre	0,05
Alkaliserende middel (mol):	Kaliumhydroksid	0,06
Vann (ml):	Deionisert	26
pH:		14,42

Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

Drepingen av *Stachybotrys chartarum*-sporer av preparatet ifølge tabell 6 var fullstendig.

Tabell 7:

5

Komponent (II)	Preparat (II)	Mengde (II)
Alkanol (ml):	Etanol	62
Fettsyresåper (mol):	Kaliumlaurat	0,05
Alkaliserende middel (mol):	Kaliumhydroksid	0,01
Vann (ml):	Deionisert	26
pH:		14,42

Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

Drepingen av *Stachybotrys chartarum*-sporer av preparatet ifølge tabell 7 var fullstendig.

10

Dermed var det ingen forskjell i den antimikrobielle effekten mellom preparatene ved anvendelse av forlagede fettsyresåper og fettsyresåper som var generert *in situ* ved tilsetning av en overskuddsmengde av alkaliserende middel for å nøytralisere de frie fettsyrene. I etterfølgende eksperimenter ble fettsyresåper generert *in situ*.

15

Eksempel 3

20

Bakeriesporer er meget resistente mot kjemiske og fysiske midler. De anerkjennes som å være de vanskeligste mikroorganismene å drepe. De viktigste spordannende bakteriene er medlemmer av slekten *Bacillus* og *Clostridium*. *Bacillus anthracis* og *Clostridium difficile* er utbredt over nesten hele verden. Store utbrudd av *Clostridium difficile* har vært beskrevet i sykehus. Sporene fra dette patogenet er i stand til å overleve i lange perioder i sykehusomgivelser, f.eks. på gulv og rundt toaletter. *Bacillus*-sporer som er rikelige i jordsmonnet, forårsaker infeksjon på gårdsbruk og hos ville dyr og hos mennesker som er i kontakt med infiserte dyr eller inntatt kontaminert kjøtt. Sporer av *Bacillus anthracis* er blitt anerkjent som et meget farlig, biologisk krigføringsmiddel. Det er ekstremt viktig å finne en effektiv kontrollerende forholdsregel for å nøytralisere disse infeksjøsne midlene. Steriliseringseffekten av preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse ble undersøkt på sporer av *Bacillus atropheus* festet til overflaten av rustfrie skiver. *Bacillus atropheus* er et velkjent surrogat for *Bacillus anthracis* og ble anvendt i alle eksperimentene. Prøver i triplikat (tre separate skiver) utføres for alle behandlinger og tidspunkter.

30

Fremstilling for kvantitativ analyse av levende sporepopulasjon på rustfrie stålskiver.

Materialer: Rustfrie stålskiver inokulert med 2×10^6 sporer av *Bacillus atrophaeus* per skive (SGM Biotech Inc), Sterile 6 mm glasskuler, 0,1 % Tween 80 i vann og tryptiske soyaagarplater.

Eksperimentell fremgangsmåte: Plasser en enkel inokulert plate i et sterilt,
 5 flatbundet scintillasjonsrør. Tilsett 10 ml av behandling (vann, preparat ifølge foreliggende oppfinnelse osv.) og inkuber ved romtemperatur i spesifisert tidsrom (15 sek., 5 min., 30 min. osv.). Etter behandling, fjern skive med avbrent pinsett og overfør ved å berøre en kant av skiven med sterilt filterpapir for å fjerne overskuddsbehandling. Plasser behandlet skive i et flatbunnet reagensrør (21,5 x 95 mm) fylt med fire 6 mm glasskuler og 5,0 ml 0,1
 10 % Tween 80. Soniker hvert rør i 5 minutter og vortex så hvert rør i 5 minutter (ved hastighet 5 på en Vortex Genie 2). Tilsett 5,0 ml sterilt, rensset vann og vortex igjen i fem minutter. Varmesjokk ved 82 °C i 10 minutter. Vortex de varmesjokkbehandlede rørene i 10 sekunder. Utfør serielle tigangers fortynninger ved å overføre 0,1 ml til fortynningsrør inneholdende 0,9 ml sterilt vann. Vortex hvert rør i 10 sekunder. Plat ut 1,0 ml av det
 15 initielle varmesjokkbehandlede rør, så vel som 0,1 ml av det initielt varmesjokkbehandlede røret og fra hver fortykning i triplikat på tryptiske soyaagarplater. Inkuber plater ved 32 °C. Tell kolonier som er vokst opp etter 24, 48 og 72 timers inkubering. Beregn til slutt prosent overlevelse og prosent drap, sammenlignet med kontrollskiver som kun ble inkubert i vann.

Analyseprosedyre for kvalitativ sporeoverlevelse.

20 *Materialer:* Rustfrie stålskiver inokulert med 2×10^6 per skive av *Bacillus atrophaeus* (SGN Biotech Inc.), og tryptisk soyabuljong.

Eksperimentell fremgangsmåte: Plasser en enkel inokulert skive i et sterilt, flatbunnet scintillasjonsrør. Tilsett 10 ml med behandling (vann, preparat ifølge foreliggende oppfinnelse, osv.) og inkuber ved romtemperatur i spesifisert tid (15 sek., 5 min., 30 min.,
 25 osv.). Etter behandling, fjern skiven med avbrent pinsett og overfør ved å berøre en kant av skiven med sterilt filterpapir for å fjerne overskuddsbehandling. Plasser behandlet skive i 50 ml sterilt reagensrør med skrukork inneholdende ti milliliter (10 ml) av tryptisk soyabuljong. Inkuber rørene ved 32 °C. Undersøk vekst i rørene hver dag i 14 dager eller inntil alle rør har nådd maksimale turbiditet ved sammenligning av turbiditet med turbiditetsstandarder ifølge MacFarland. Poeng fra 0-7 med 0 = ingen synlig vekst og 7 = tett vekst. Idet et rør
 30 når en poengsum på 7, noteres det som 7 i resten av eksperimentet.

Kvalitativ analyse av spordreping ved det oppfunne preparat: Elleve preparater ble testet kvalitativt for deres evne til å drepe sporer av *Bacillus atrophaeus* som vist i tabell 8. Tre rustfrie stålskiver inokulert med 2×10^6 sporer av *B. atrophaeus* ble individuelt
 35 eksponert for hver formulering i tretti (30) minutter ved romtemperatur. Eksponerte skiver ble fjernet fra behandling, blottet for å fjerne overskuddsbehandling, plassert i 10 ml vekstmedium med tryptisk soyabuljong og inkubert ved 32 °C. Vekst av kulturer ble observert daglig i 14 dager. Resultater fra disse eksperimentene som er vist i tabell 9, ble

notert som summen av poengene for tre separate kulturer for hver behandling, maksimum poeng = 21. En poengsum på 6 eller høyere indikerer signifikant vekst.

Tabell 8: Kombinasjon av preparater av forskjellige bestanddeler

5

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

Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

Tabell 9: Resultater av den spordpende aktiviteten til forskjellige preparater

Preparater	Maksimumspoeng	Dager krevd for å nå maksimumspoeng	Dager krevd for å nå signifikante poeng
1	21	4	2
2	21	3	2
3	21	2	1
4	21	4	3
5	21	13	1
6	3	3	NA
7	3	4	NA

8	3	3	NA
9	21	2	1
10	21	3	3
11	21	3	2
Vann	21	1	1

Disse resultatene indikerer at preparatene 6, 7 og 8 er de mest effektive. Det chelaterende middelet EDTA har en meget negativ effekt på den spordrepende effekten av preparatene. Resultatene for disse testene viser tydelig en synergisme mellom kaliumlaurat, etanol og KOH, som utgjør den dramatiske, spordrepende effekten av preparatene. Det ses fra disse resultatene at anvendelsen av disse resultatene at anvendelsen av de tre ingrediensene i kombinasjon (dvs. etanol, fettsyresåper og alkaliserende middel) produserte en mye sterkere synergistisk steriliserende effekt enn det som kunne forventes fra den individuelle eller samtidige anvendelse av etanol og alkaliserende midler eller den samtidige anvendelse av etanol og fri laurinsyre, og kunne markert redusere de krevde konsentrasjoner av de individuelle ingrediensene. De antimikrobielle forbindelsene fra preparatet virker synergistisk for å redusere både konsentrasjonen av individuelle forbindelser som kreves for inaktivering av patogener og like viktig, i stor grad redusere tiden som trengs for patogeninaktivering. Desto raskere patogener inaktiveres, desto mindre sannsynlig er det at de vil etablere en infeksjon. Vi fant det overraskende at den totale antimikrobielle effekten som er tilveiebrakt av preparatet, ser ut til å være langt større enn det som kan utledes ved undersøkelse av den antimikrobielle effekten av hver forbindelse individuelt.

Kvantitativ analyse av sporedreping av de oppfunne preparatene 1, 6, 8 og 11:

Fire preparater ble testet for sin evne til å drepe sporer av *Bacillus atropheus* ved anvendelse av en kvantitativ analyse for å måle sporeantallet som overlever behandling. Tre rustfrie stålskiver som ble inokulert med 2×10^6 sporer av *B. atropheus* ble individuelt eksponert for hvert preparat i enten 15 sekunder eller 30 minutter ved romtemperatur. Eksponerte skiver ble fjernet fra behandling og prosessert for å fjerne sporer fra skivene. Sporesuspensjoner som ble fjernet fra skivene, ble fortynnet og fortynninger ble utsådd i triplikat på tryptiske soyaagarplater. Platene ble inkubert i 72 timer ved 32 °C, og koloniene ble telt ved 24, 48 og 72 timer. Resultater for disse eksperimentene er presentert som gjennomsnittet fra tre replikaprøver og er vist i tabell 10.

Tabell 10: Prosent reduksjon av *Bacillus atrophaeus*-sporer ved anvendelse av valgte preparater

Preparat	Levedyktige sporer	Dreping etter
1	$6,9 \times 10^2$	99,96 %
6	Ingen vekst	>99,99995 %
8	Ingen vekst	>99,99995 %
11	$5,2 \times 10^5$	74 %
Vannkontroll	2×10^6	0 %

5

Disse resultatene viser at formuleringene 6 og 8 gir fullstendig, eller nesten fullstendig, drap av 2×10^6 -sporer i løpet av 30 minutter ved romtemperatur.

Eksempel 4

10

Insektvektor (f.eks. mygg osv.)-kontroll er en integrert del av å kontrollere overføringen av infeksjøs sykdommer (West Nile, malaria, encefalitt osv.). Preparatene ifølge foreliggende oppfinnelse er effektive til dreping av patogenene som forårsaker disse smittsomme sykdommene, så vel som vektorene som overfører disse patogenene og leder derfor til en redusert infeksjøs sykdomsrisiko. Insektdrepende toksisitet har økt interessen for alternative fremgangsmåter for integrert implementering av vektorkontroll som inkluderer biologisk kontroll. Preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse er ikke toksisk og trygt for mennesker og miljøet og krever ingen rensing av overflater med direkte kontakt med mat, fordi den er laget med GRAS-ingredienser.

15

20 **Tabell 11:**

Komponent	Preparat	Mengde
Alkanol (ml):	Etanol	62
Fettsyre (g):	Laurinsyre	10
Alkaliserende middel (g):	Kaliumhydroksid	5,5
	Kaliumbikarbonat	1
pH:		14,94

Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

25

Insektdrepende aktivitet bestemmes ved anvendelse av larver ved tredje instarstadiet av myggen *Culex pipiens quinquefasciatus*. Ti larver plasseres i en seks ungers papirkopp, inneholdende 100 ml av preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse. De behandlede larvene lagres ved 70 °F, og 48 timer senere noteres mortalitetene.

Eksempel 5

Kjemiske krigføringsmidler som sannsynligvis utgjør en trussel fra terrorister, inkluderer sarin (O-isopropyl-metylfosfonofluoridat), soman (O-pinacolyl- metylfosfono-
 5 fluoridat), tabun (O-etyl-N,N-dimetyl-fosforamidcyanidat) og VX (O-etyl-S-2-diisopropyl-
 aminoetyl-metyl-fosfonotiolat). De kjemiske strukturene til disse midlene illustrerer
 likheten ved det faktum at de er fosforinnholdende forbindelser og kan kjemisk endres
 ved nukleofilt angrep ved anvendelse av preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse og
 derved nøytraliseres som kjemiske krigføringsmidler.

10

Tabell 12:

Komponent	Preparat	Mengde
Alkanol (ml):	Etanol	72
Fettsyre (g):	Laurinsyre	10
Alkaliserende middel (g):	Kaliumhydroksid	5,5
	Aluminiumhydroksid	1
pH:		14,94

Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

15

De alkaliserende midlene tilsettes til preparatet i en mengde som er opptil 1-3
 ganger mer enn det som er tilstrekkelig for å nøytralisere de tilstedeværende fettsyrene.
 Overskuddsmengden tilsettes utover nøytraliseringspunktet til laurinsyre for å tilveie-
 bringe nok nukleofiler til å hydrolisere kjemiske krigføringsmidler og denaturere infeksjøs-
 prioner. Nukleofilene i dette oppfunne preparatet omfatter hydroksider og alkoksider.

20

De alkaliserende midlene reagerer med etanol for å produsere etoksid. Etoksid er mer
 alkalisk enn hydroksider og sterkere.

25

Den følgende testprosedyren anvendes for å måle reaksjonshastigheten: Alle
 tester utføres med midler av CASARM-kvalitet (Chemical Agent Standard Analytical
 Reference Material). Alle tester utføres ved romtemperatur i en innkapslet reaksjons-
 25 beholder utstyrt med en blander. Preparatet ifølge foreliggende oppfinnelse (100 ml)
 plasseres i reaksjonsbeholderen og røres. Ved begynnelsen av testen plasseres to
 milliliter (2 ml) av det kjemiske krigføringsmiddelet i reaksjonsbeholderen. Prøver fjernes
 fra blandingsbeholderen ved forskjellige tidspunkter. Prøvene quenches med løsemiddel
 og analyseres ved gasskromatografimassespektrometri (GC MS) for ureagert middel. Alle
 30 testprøver analyseres i triplikat.

Eksempel 6

Objektglass som er kunstig kontaminert med vevssnitt, tilveiebringes ved autopsi fra et menneske med sporadisk Creutzfeldt-Jacobs sykdom (uten mutasjonen i kimbanen a prionproteingenet (PRNP), homozygot metionin i PRNP-kodon 129), eksponeres for
 5 behandlinger på 1 minutt og 10 minutter med de følgende preparater, som er vist i tabell 13, ved romtemperatur.

Tabell 13: Kombinasjon av preparater av forskjellige bestanddeler.

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

10 Blandingen ble laget opptil et volum på 100 ml med deionisert vann.

Etter eksponering homogeniseres vev i lyseringsbuffer som beskrevet av Castellini et al. (1996). Kontrollvev for CJD og vev som er eksponert for preparatene som er rapportert i tabell 13, behandles deretter med 2X prøvebuffer og kokes i ti minutter. En
 15 kontrollprøve for CJD utsettes også for begrenset proteolyse (100 mikrogram/ml proteinase K) i én time ved 37 °C, proteaseinhibitor (Pefabloc, Roche Applied Science, Indianapolis, IN) stopper reaksjonen, og likt volum av 2X prøvebuffer tilsettes, fulgt av koking i ti minutter. Alle prøver settes så på 12 % polyakrylamid-minigel og elektroforeseres ved 150 V, før overføring til en overføringsmembran av typen Immobilon
 20 (Millipore Corporatin, Billerica, Massachusetts) i to timer ved 4 °C. Prøvene på membranen reageres med det monoklonale antistoffet 3F4, som gjenkjenner residiene 109-112 fra humant prionprotein. Immunreaktivitet visualiseres ved chemiluminescens og detekteres ved standard autoradiografi.

P a t e n t k r a v

1. En ikke-terapeutisk fremgangsmåte for rengjøring av et materiale som omfatter:
 - a) å tilveiebringe et vandig preparat som omfatter en blanding av en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer og et fettsyrederivat som er en alkali- eller jordalkalimetallsalt av en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer eller et glyserid som omfatter en glyseroldel festet med en esterbinding til én eller flere fettsyrer som har fra 4 til 22 karbonatomer ved en pH på 14 eller høyere, hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet;
 - b) å påføre preparatet til materialet i en effektiv mengde for å rengjøre materialet; og
 - c) eventuelt å fjerne et resulterende preparat i trinn (b).
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor fettsyrederivatet er et alkali- eller jordalkali-metallsalt.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor fettsyrederivatet er kaliumlaurat.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 1, hvor fettsyrederivatet er et monoglyserid.
5. Et preparat som omfatter i en blanding:
 - a) en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer; og
 - b) et fettsyrederivat som er et alkali- eller jordalkalimetallsalt av en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer eller et glyserid som omfatter en glyserol-del festet med en esterbinding til én eller flere fettsyrer som har fra 4 til 22 karbonatomer løselig i alkanolet, hvor preparatet har en pH på 14 eller høyere, og hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet.
6. Preparat ifølge krav 5, hvor det er en vandig løsning.
7. Preparat ifølge krav 5, hvor den lavere alkanolen er metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, eller blandinger derav.
8. Preparat ifølge krav 5, hvor fettsyrederivatet er et salt av alkali- eller jordalkali-metallsalt.
9. Preparat ifølge krav 5, hvor fettsyrederivatet er et monoglyserid.

10. En fremgangsmåte for fremstilling av et preparat, som omfatter:
- a) å tilveiebringe en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer;
 - b) å tilveiebringe et fettsyrederivat som er et alkali- eller jordalkalimetallsalt av en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer eller et glyserid som omfatter en glyseroldel festet ved en esterbinding til én eller flere fettsyrer som har fra 4 til 22 karbonatomer løselig i alkanolet; og
 - c) å blande det lavere alkanol- og fettsyrederivatet for å tilveiebringe preparatet, hvor preparatet har en pH på 14 eller høyere og hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet.
11. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor den lavere alkanol er etanol.
12. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor fettsyrederivatet er et salt av alkali- eller jordalkalimetallsalt.
13. Fremgangsmåte ifølge krav 10, hvor fettsyrederivatet er et monoglyserid.
14. En fremgangsmåte for fremstilling av et preparat, som omfatter:
- a) å tilveiebringe en lavere alkanol inneholdende 1 til 6 karbonatomer;
 - b) å tilveiebringe en fettsyre som omfatter 4 til 22 karbonatomer;
 - c) å tilveiebringe et alkalisk middel; og
 - d) å blande den lavere alkanolen, fettsyren og alkaliseringsmidlet for å tilveiebringe preparatet,
- hvor preparatet har en pH på 14 eller høyere og hvor fettsyrederivatet er mellom 0,1 og 25 vekt% av preparatet, idet fettsyrederivatet dannes fra fettsyren og alkaliseringsmidlet.
15. Preparatet ifølge krav 5, hvor vann er tilsted i en mengde på mellom 15 og 60 vekt% av preparatet.
16. Fremgangsmåte ifølge krav 10 eller 14, hvor fettsyresaltet omfatter et alkali metal salt, eller et jordalkalimetallsalt av laurinsyre.
17. Fremgangsmåte ifølge krav 10 eller 14, hvor den lavere alkanolen er valgt fra gruppen bestående av metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol og blandinger derav
18. Fremgangsmåte ifølge krav 17, hvor den lavere alkanolen omfatter etanol.

19. Fremgangsmåte ifølge krav 14, hvor alkaliseringsmiddelet er valgt fra gruppen bestående av et alkalimetallhydroksid, jordalkalimetallhydroksider, alkalimetall- eller hydrogenkarbonater, og blandinger derav.

5 20. Fremgangsmåte ifølge krav 14, hvor alkaliseringsmiddelet er valgt fra gruppen bestående av ammoniumhydroksid, aluminiumhydroksid, natriumhydroksid, kaliumhydroksid, litiumhydroksid, kalsiumhydroksid, magnesiumhydroksid, natriumkarbonat, natriumhydrogenkarbonat og blandinger derav.

10

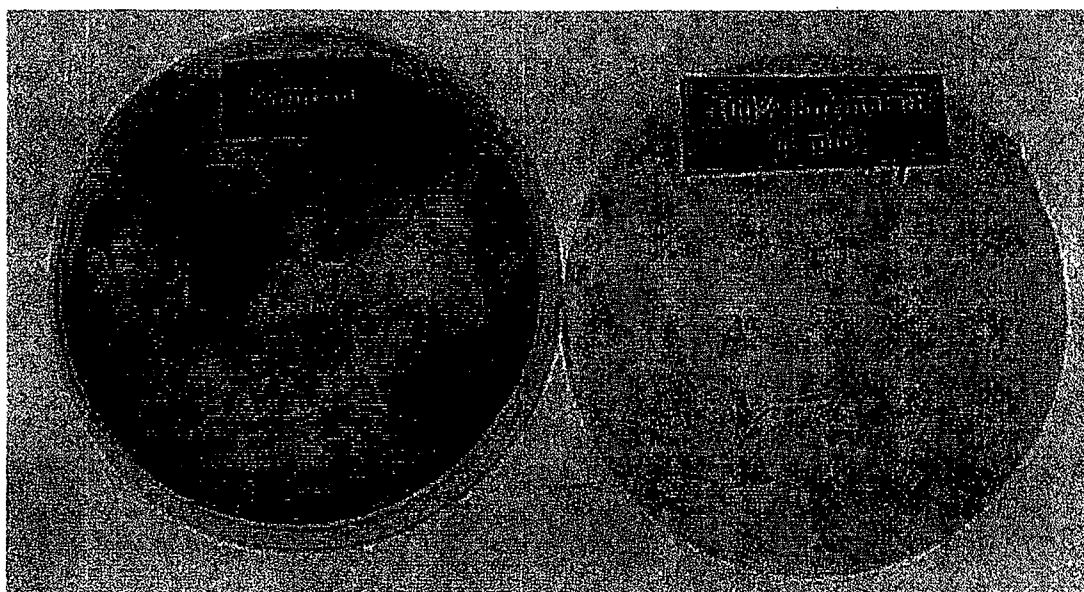
15

20

25

1 / 19

EFFEKT AV 100% FB PÅ REDUKSJONEN AV SVARTSOPPSPORER



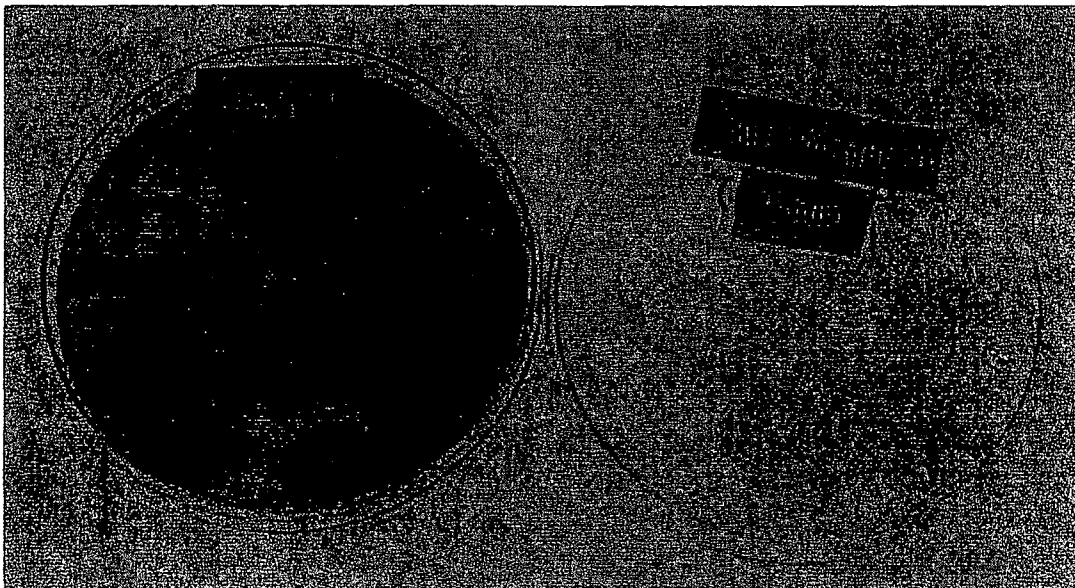
KONTROLL

100% FB (1 min. kontaktid)

FIG. 1A

2 / 19

EFFEKT AV 60% FB PÅ REDUKSJONEN AV SVARTSOPPSPORER



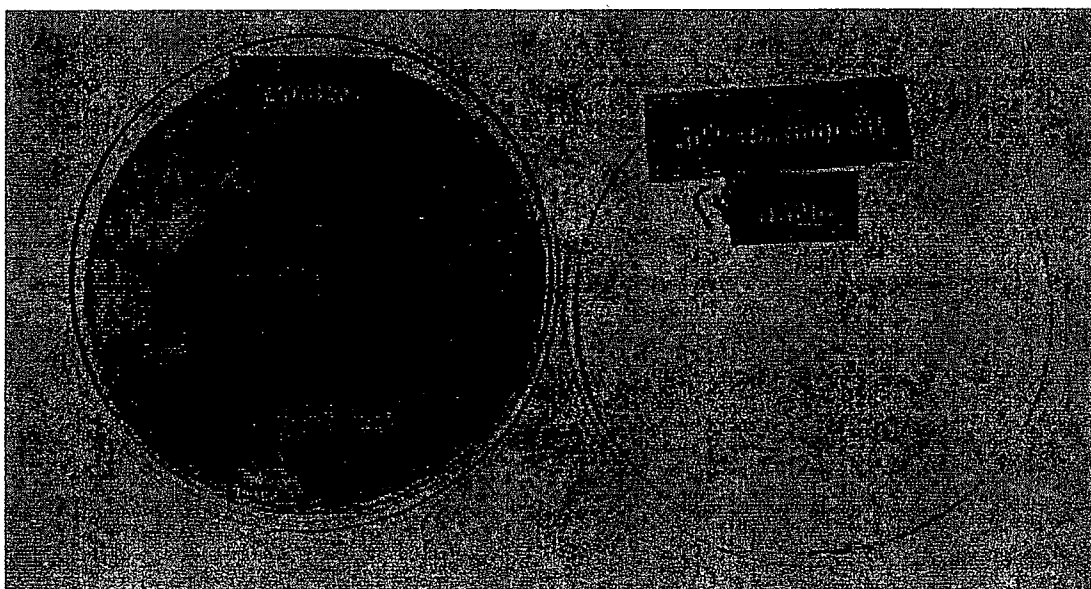
KONTROLL

60% FB (1 min. kontaktid)

FIG. 1B

3 / 19

EFFEKT AV 50% FB PÅ REDUKSJONEN AV SVARTSOPPSPORER



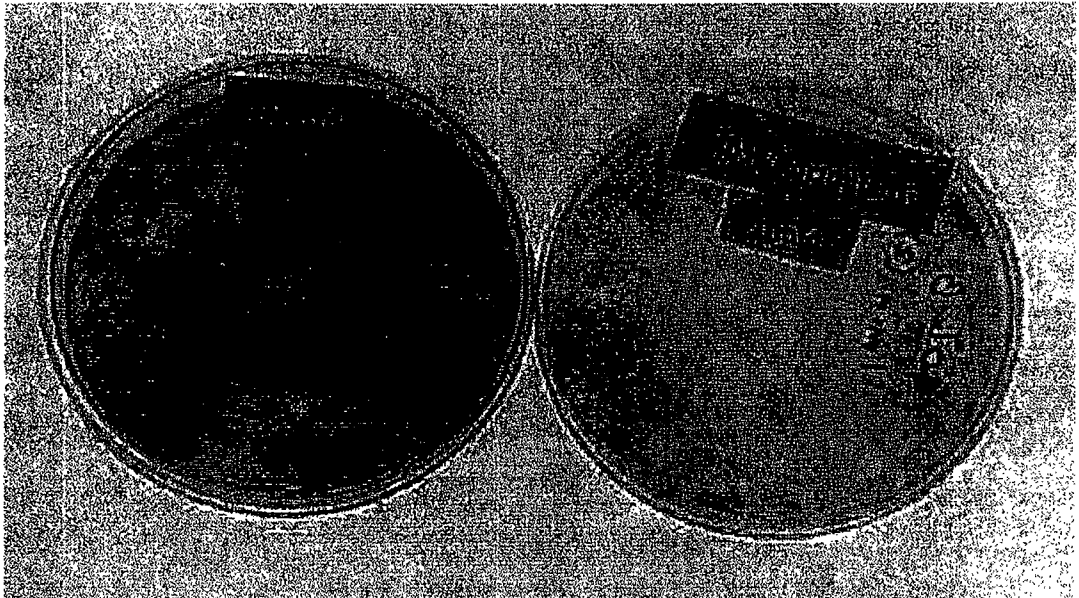
KONTROLL

50% FB (1 min. kontaktid)

FIG. 1C

4 / 19

EFFEKT AV 40% FB PÅ REDUKSJONEN AV SVARTSOPPSPORER



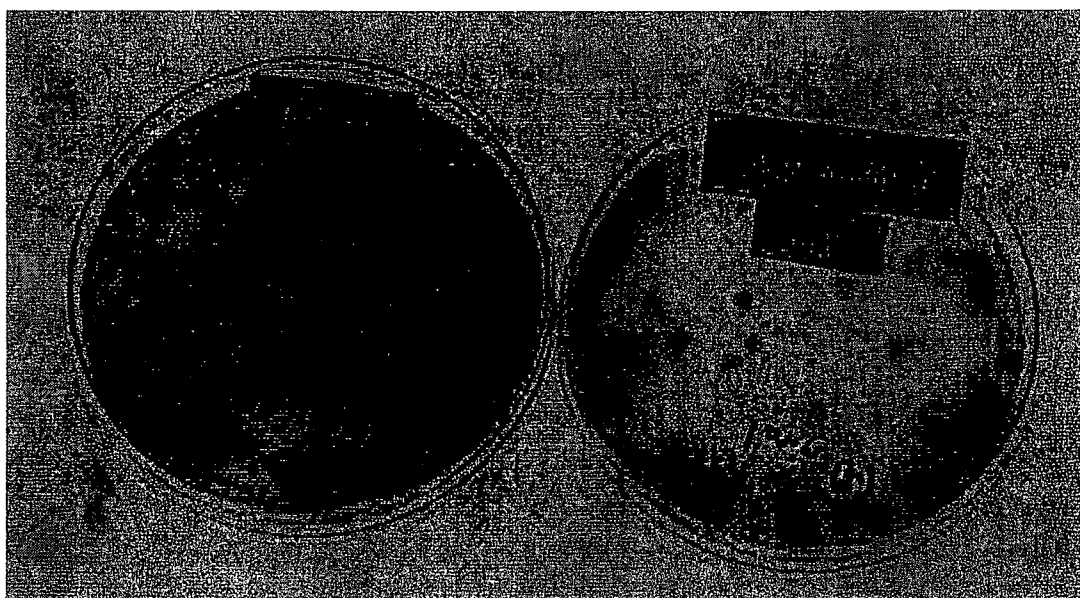
KONTROLL

40% FB (1 min. kontaktid)

FIG. 1D

5 / 19

EFFEKT AV 30% FB PÅ REDUKSJONEN AV SVARTSOPPSPORER



KONTROLL

30% FB (1 min. kontaktid)

FIG. 1E

6 / 19

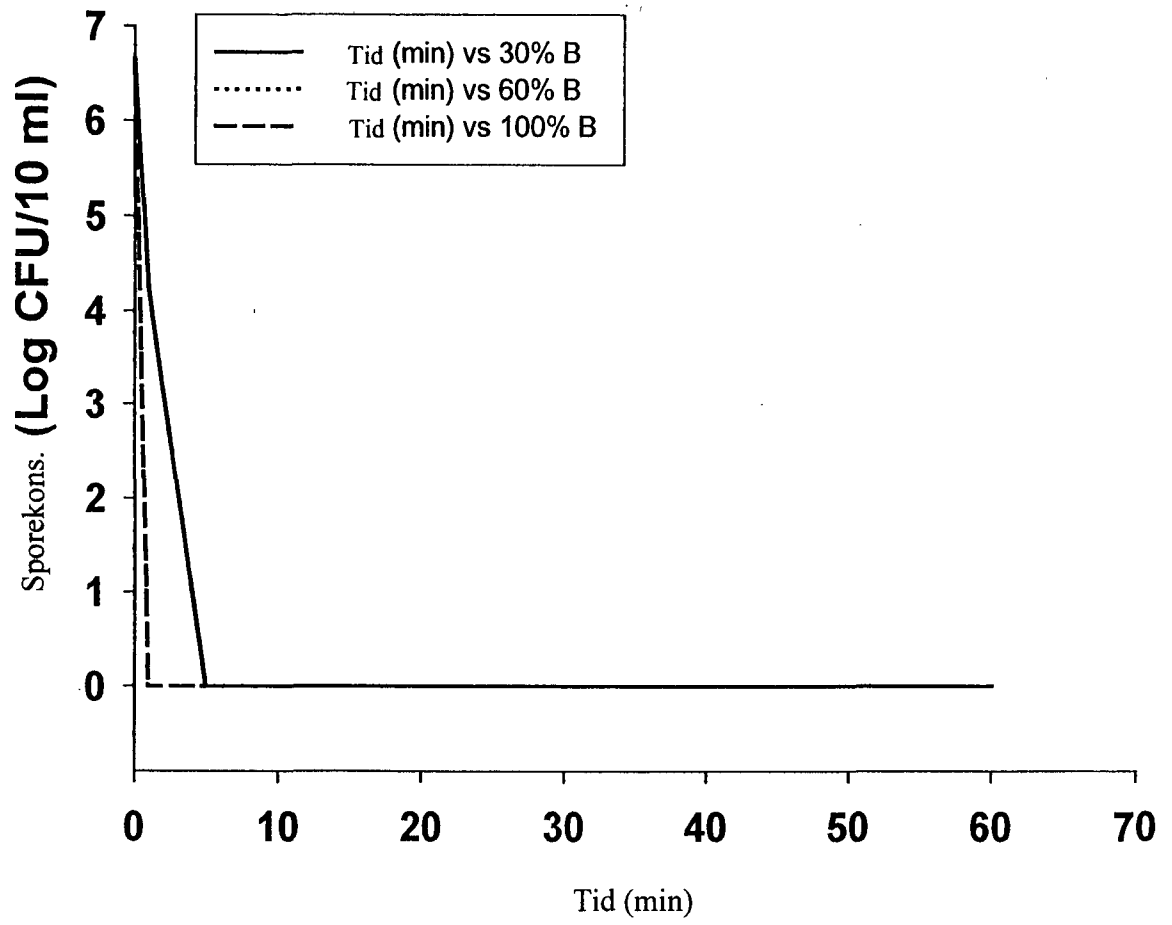
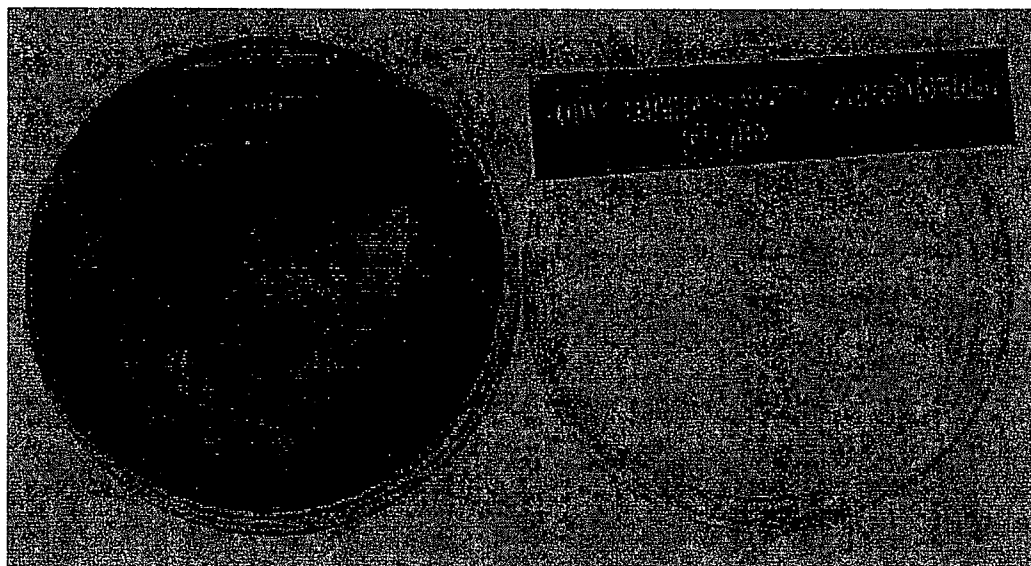


FIG. 2

7 / 19

EFFEKT AV 12,5 % NaOCl PÅ DREPINGEN AV SVARTSOPPSPORER



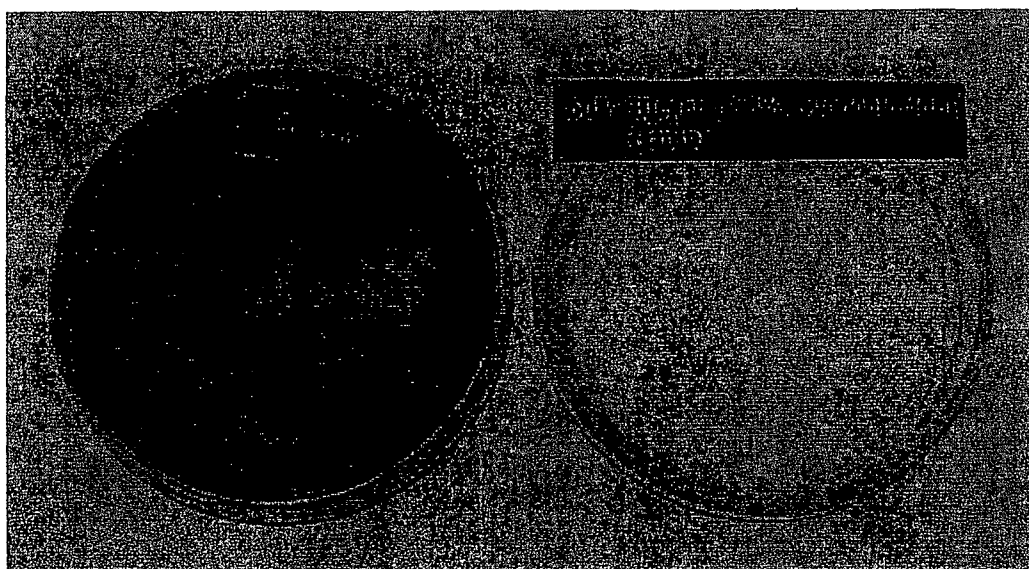
Kontroll

NaOCl (1 min. kontakttid)

FIG. 3A

8 / 19

EFFEKT AV 7,5 % NaOCl PÅ DREPINGEN AV SVARTSOPPSPORER



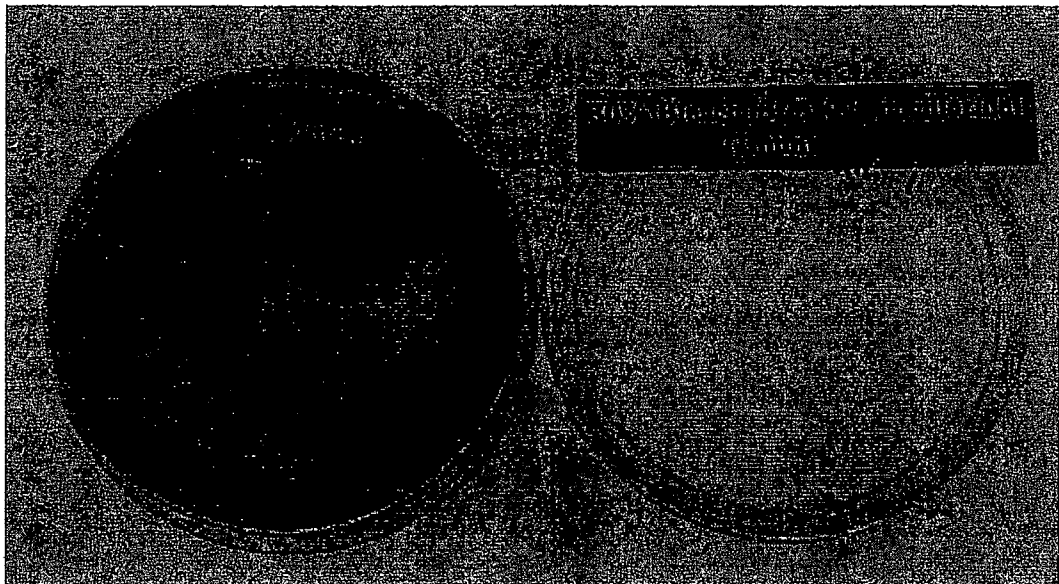
Kontroll

NaOCl (1 min. kontaktid)

FIG. 3B

9 / 19

EFFEKT AV 3,75 % NaOCl PÅ DREPINGEN AV SVARTSOPPSPORER

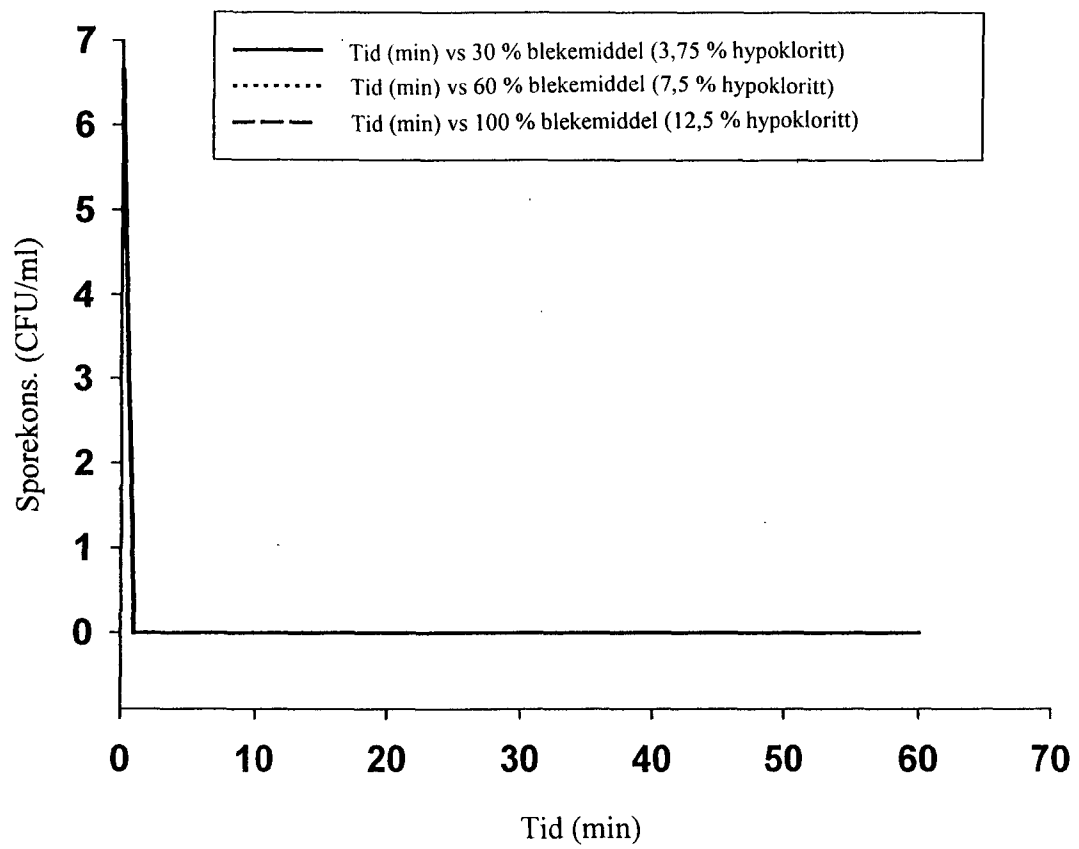


Kontroll

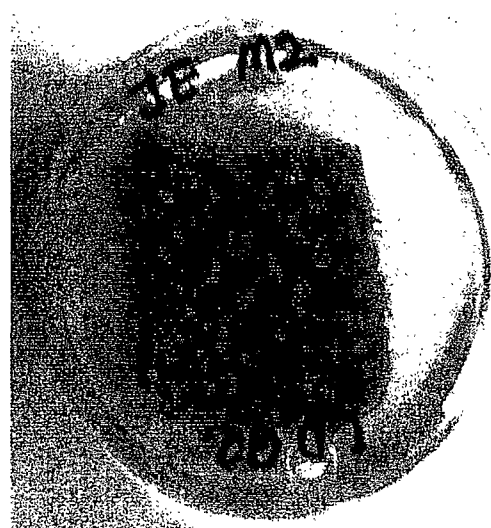
NaOCl (1 min. kontaktid)

FIG. 3C

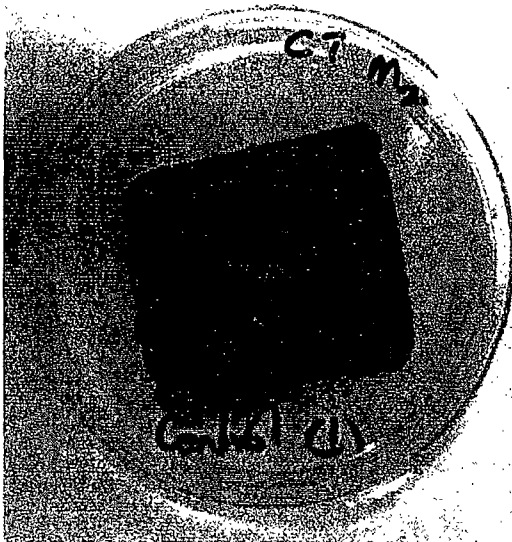
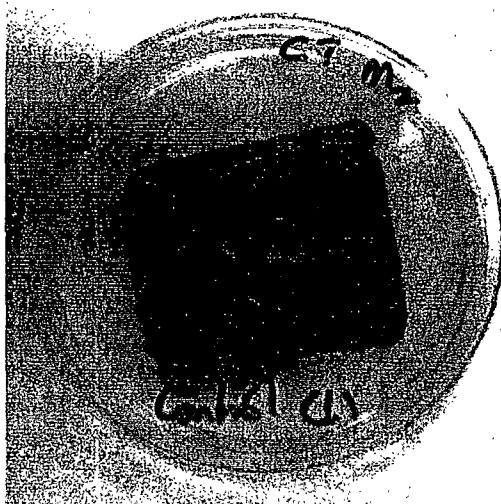
10 / 19

**FIG. 4**

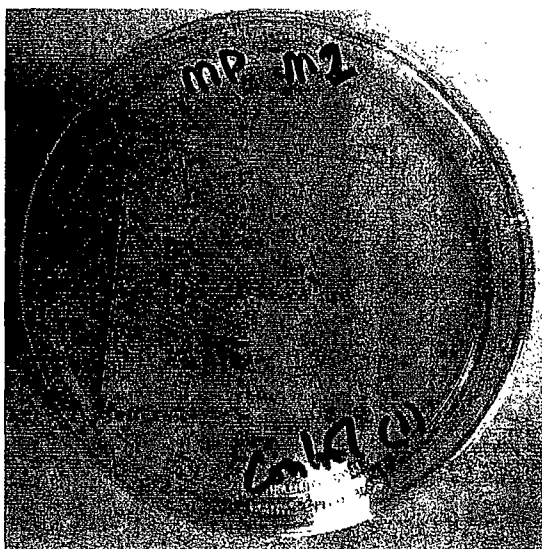
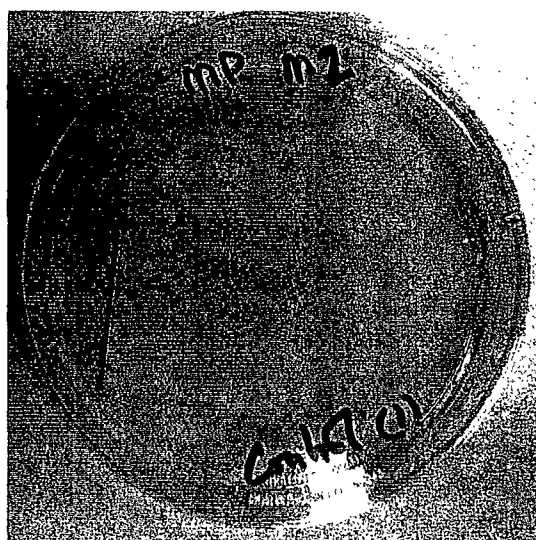
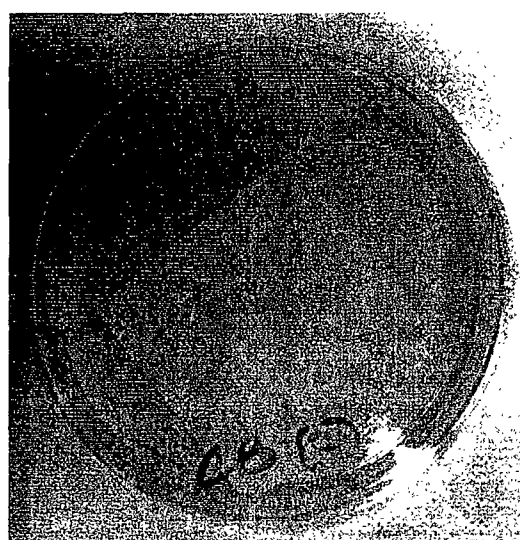
11 / 19

Inokulert med *Stachybotrys*Inokulert /Behandlet med
preparat (50 % FB)Inokulert med *Stachybotrys*Inokulert/Behandlet med
husholdningsblekemiddelet**FIG. 5**

12 / 19

Inokulert med *Stachybotrys*Inokulert /Behandlet med
preparat (50 % FB)Inokulert med *Stachybotrys*Inokulert/Behandlet med
Husholdningsblekemiddelet
Clorox**FIG. 6**

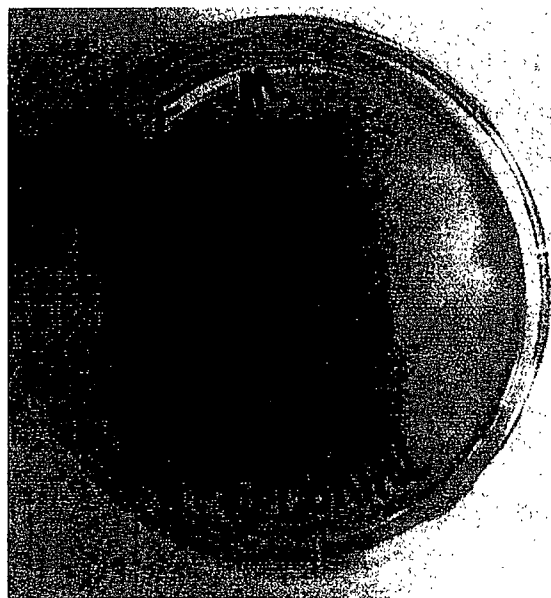
13 / 19

Inokulert med *Stachybotrys*Inokulert /Behandlet med
preparat (50 % FB)Inokulert med *Stachybotrys*Inokulert/Behandlet med
Husholdningsblekemiddelet
Clorox**FIG. 7**

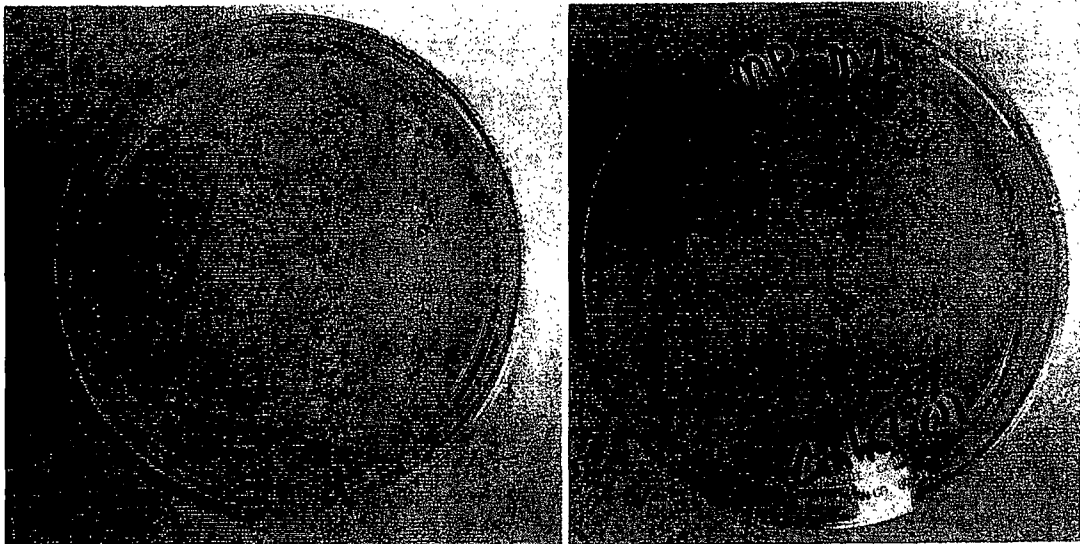
14 / 19



Ikke behandlet

Inokulert med *Stachybotrys***FIG. 8**

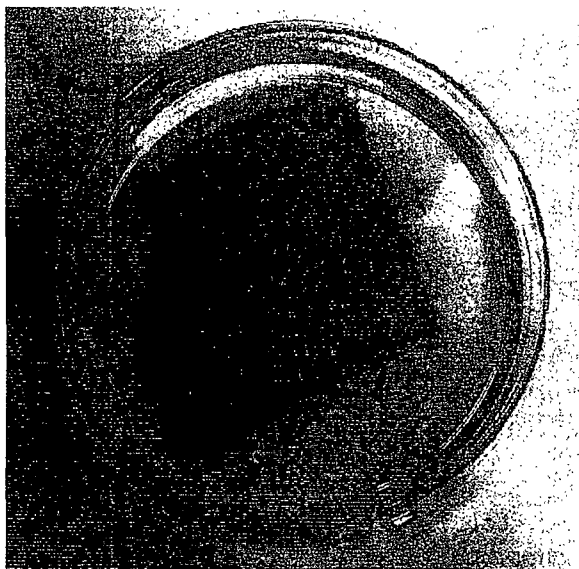
15 / 19



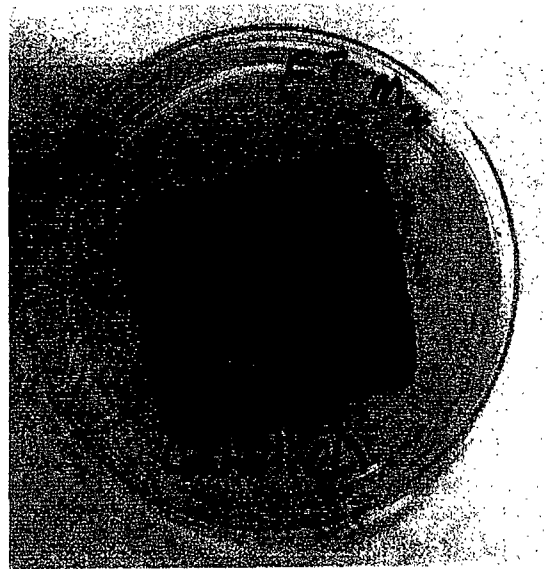
Ikke behandlet

Inokulert med *Stachybotrys***FIG. 9**

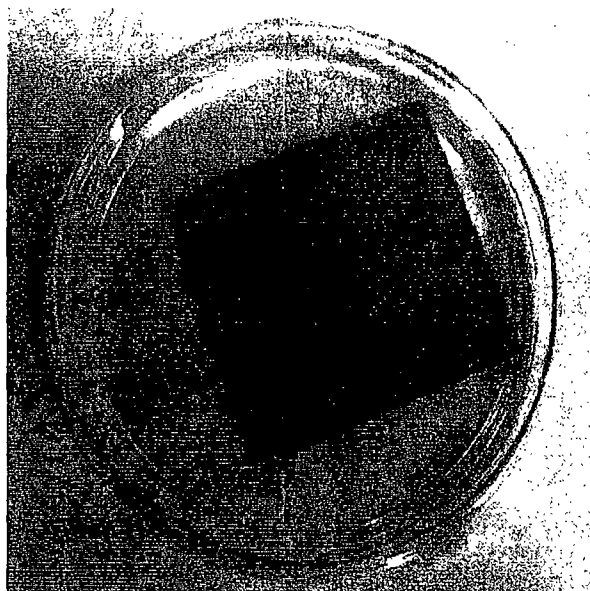
16 / 19



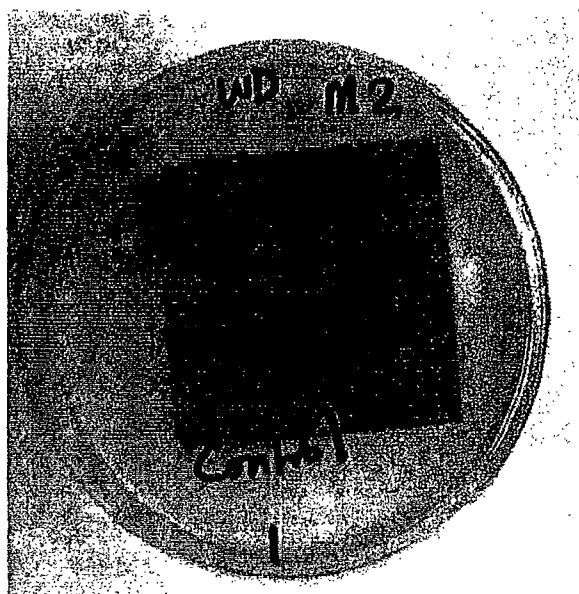
Ikke behandlet

Inokulert med *Stachybotrys***FIG. 10**

17 / 19



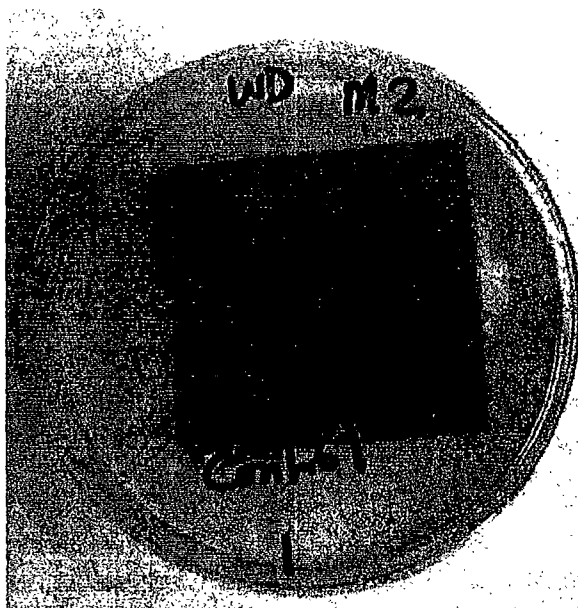
KONTROLL (Ikke behandlet)

FIG. 11A

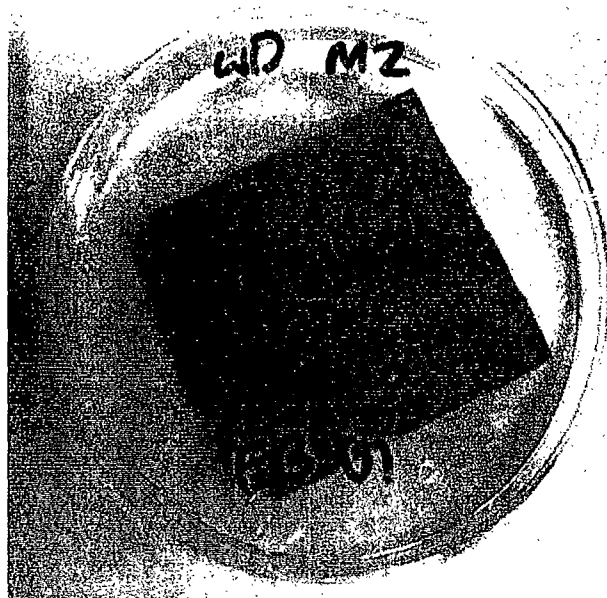
Inokulert med svartsoppsspore

FIG. 11B

18 / 19



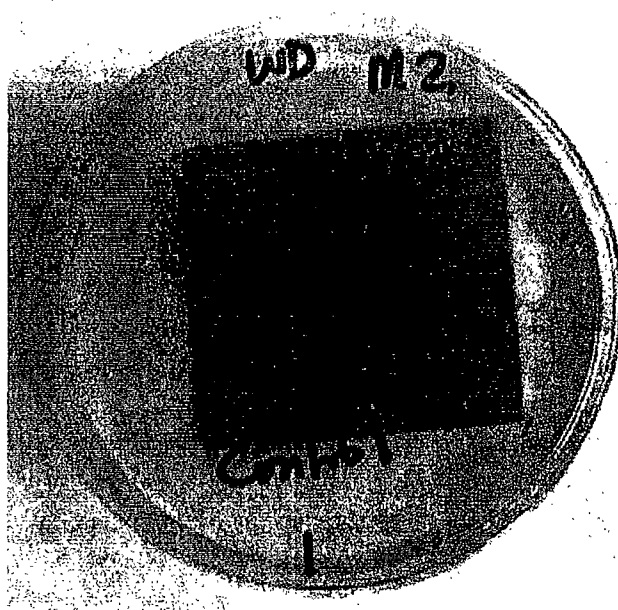
Inokulert med svartsoppsspore

FIG. 11C

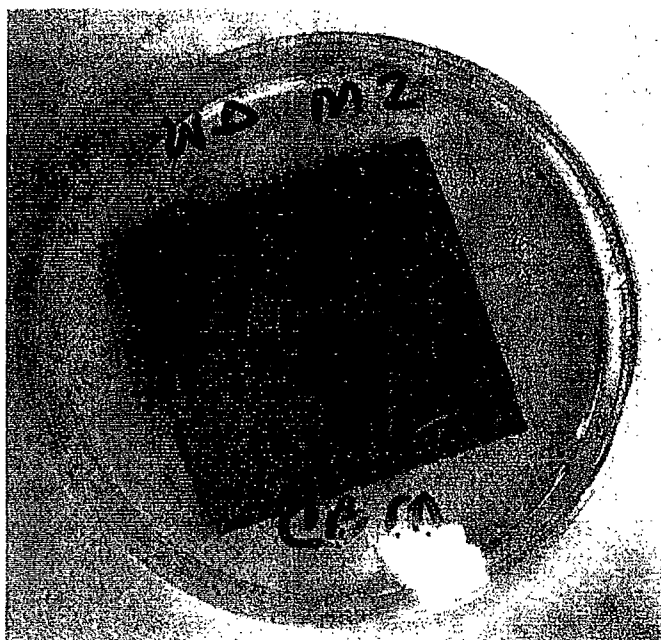
Inokulert/Behandlet med 50 % FB

FIG. 11D

19 / 19



Inokulert med svartsoppsspore

FIG. 11E

Inokulert/Behandlet med NaOCl

FIG. 11F