

VITBOK: EFFEKTER AV EASYDECON® PÅ SARS- CORONAVIRUS

Robert H. Comstock

SAMMANFATTNING

- DF200 är en produkt som ursprungligen uppfanns av Sandia National Laboratories på uppdrag av USA:s energidepartement. Den har genomgått omfattande testning i laboratorier och på fältet och bevisats uppnå inaktivering på 3-4 log av bakteriedödande virus (SARS, coronavirus) inom 30-60 sekunder. Patogenerna dödas genom en kemisk redoxreaktion och de kan inte utveckla immunitet.
- DF-200 marknadsförs nu av Intelagard under varumärket EasyDECON®.
- EasyDECON ® är naturligt nedbrytningsbart och är därför enkelt att både applicera och avlägsna.
- EasyDECON ® är endast lindrigt frätande.
- EasyDECON® kan appliceras på olika sätt: som vätska, skum och/eller i dimform, beroende på omständigheterna på den plats som ska dekontamineras.

INTRODUKTION

Den första större epidemin som orsakats av coronaviruset (CoV) uppstod i Kina 2019. Vissa studier vid ett laboratorium i Indien⁽¹⁾ har visat att vissa delar av viruskedjan är dubletter av liknande delar som hittats hos SARS-viruset och HIV-viruset. Från början fanns misstankar om att dubblettedelarna hos CoV hade orsakats av mänsklig intervention, men den ogranskade rapporten med dessa uppgifter avvisades och anklagelserna om medveten virusmanipulering togs bort.

Coronaviruset upptäcktes för första gången för nästan 60 år sedan, och fick stor uppmärksamhet 2003 när ett coronavirus identifierades som orsaken till SARS-CoV (svår akut respiratorisk sjukdom). Studier som gjordes på SARS-viruset 2004 ledde fram till ett patent med namnet "Corona Virus Isolated from Humans" (2) där man konstaterade att det nyligen isolerade coronaviruset, som fick beteckningen SARS-CoV, var orsaken till SARS. Coronavirus är positiva enkelsträngade RNA-virus som orsakar sjukdom hos människor samt hos husdjur och sällskapsdjur. Det är intressant att CoV innehåller proteinkedjor som är exakt likadana som kedjor som återfinns hos SARS- och HIV-virusen. Coronavirus liknar alla andra virus. Se bild 1 nedan:

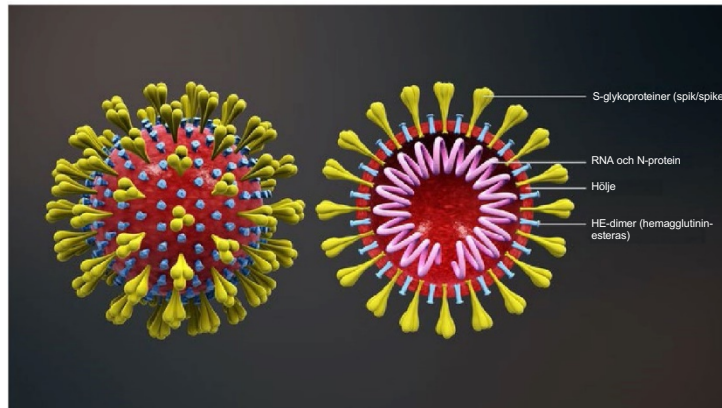


Bild 1: Coronavirusets struktur: Från Corona-Live-Dashboard-Tracker, 26 februari. 2020

I laboratoriestudier som utfördes av Sandia National Laboratories för SARS-CoV konstaterades att EasyDECON® hade hög effektivitet mot detta virus⁽³⁾.

Just nu upplever världen ännu ett stort utbrott av coronavirussmitta. Epidemin sprider sig snabbt trots att omfattande åtgärder vidtagits för att stoppa smittan. Smittan har upptäckts på kryssningsfartyg, flygplan, hotell och många andra lokaler där människor träffas, till exempel kontor. Bild 2 visar en karta över de fall som registrerats av John Hopkins CSSE per den 26 februari 2020:



Bild 2: Ökning och spridning av coronavirusinfektioner. Kartan visar endast delar av Asien, medan siffrorna återger läget för hela världen.



Den 26 februari 2020 utfärdade CDC i USA också en varning om att coronaviruset förväntas spridas till USA och att man därför vidtar förberedelseåtgärder inför en eventuell pandemi.

DISKUSSION

Formelutveckling

DF-100 (Decon Formula 100), som senare utvecklades och förbättrades till DF-200, skapades av Sandia National Laboratories (Sandia) i slutet av 1990-talet. Efter att dess effekt bevisats genom ett flertal laborietester licensierades formeln till Envirofoam Technologies, Inc. (EFT) i början av 2000 och produktnamnet blev EasyDECON®⁽⁴⁾.

Författaren till denna vitbok, kemiingenjör Robert H. Comstock, var verksamhetschef för EFT vid den tidpunkten och ledde kommersialiseringen av DF200. Produkten EasyDECON® togs så småningom i bruk av militären i Operation Ökenstorm (i Kuwait) för att skydda såväl personal som utrustning under hela operationen.

Robert H. Comstock samarbetade vidare med Sandia för att förbättra produkten ytterligare och åstadkomma en koncentrerad version. Detta lyckades och ledde fram till ett nytt patent⁽⁵⁾ där Comstock finns med som en av uppfinnarna.

Effektivitet

1. Oskadliggörande av biologiska ämnen

Biologiska vapen anses av vissa utgöra ett större hot än kemiska vapen. Detta motiveras bland annat av att biologiska ämnen är höggradigt giftiga, att de är lätta att få tag på och producera samt att de är svårupptäckta. Det finns hundratals biologiska stridsmedel som terrorister kan få tillgång till och använda. Dessa medel kan delas in i kategorier: sporbildande bakterier (t.ex. mjältbrand), vegetativa bakterier (t.ex. pest, kolera), virus (t.ex. smittkoppor, gula febern) samt bakteriella toxiner (t.ex. botulism, ricin). Fokus i denna vitbok ligger på dekontaminering av sporer, eftersom de anses svårast att döda av alla mikroorganismer.

Bakteriella sporer är höggradigt resistenta strukturer som bildas av vissa grampositiva bakterier, vanligtvis som en reaktion på stressfaktorer i miljön. De huvudsakliga sporbildande bakterierna ingår i släktena *Bacillus* och *Clostridium*. Sporer är betydligt mer komplexa än vegetativa celler. Sporens yta består av sporphöljet som i typfallet utgörs av ett tätt lager olösliga proteiner, vanligtvis med ett stort antal disulfidbindningar. Sporens bark består av peptidoglykan, en polymer som främst består av höggradigt korslänkat N-acetylglukosamin och N-acetylmuraminsyra. Sporens kärna innehåller normala (vegetativa) cellstrukturer, som ribosomer och en nukleoid.

Ända sedan bakteriella sporer upptäcktes har omfattande forskning bedrivits för att utreda

metoder för att oskadliggöra dem. Sporer är i hög grad resistenta mot många vanliga fysikaliska och kemiska ämnen, men det finns vissa antibakteriella ämnen som också dödar sporer. Många kraftfulla bakteriedödande ämnen verkar dock endast genom att hämma sporernas spridning eller tillväxt (dvs. sporistatisk effekt) och inte genom att döda sporer. Några exempel på spordödande ämnen, vid relativt höga koncentrationer, är glutaraldehyd, formaldehyd, jod-/klorföreningar med oxosyra, persyror och etylenoxid. Samtliga dessa föreningar anses allmänt vara giftiga.

Det finns flera allmänt erkända mekanismer för att döda sporer. Dessa mekanismer, som kan verka enskilt eller i kombination, beskrivs nedan:

Upplösning eller kemisk upplösning av sporens ytterhölje kan göra att oxidationsmedel kan tränga in i sporen. Flera studier (King och Gould, 1969; Gould et al., 1970) tyder på att de disulfidrika (S-S) proteinerna i sporhöljet bildar en struktur som effektivt döljer oxidantreaktiva platser. Reagenser som löser upp väte- och S-S-bindningar ökar därmed sporens känslighet för oxidanter. Ett typiskt protein med disulfidbindning visas i bild 3 nedan.

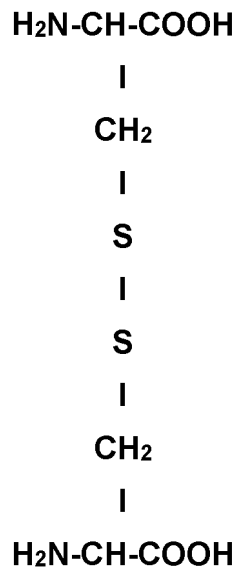


Bild 3: Protein med cysteinkoppling.

**Tabell 1: Andel dödade sporbildande bakterier
% dödade**

Ämne/simulator	Tid	pH 7,0	pH 8,0
Mjältbrandssporer	30 min.	99,99	99,99
	1 timme	99,99999	99,99999
Simulator för mjältbrand (B. globigii-sporer)	30 min.	99,99	99,99
	1 timme	99,99999	99,99999

Tabell 2: Biologiska ämnen som testats och dödat

EasyDECON® HAR VISATS KUNNA NEUTRALISERA/DÖDA FÖLJANDE BIOLOGISKA ÄMNEN:

Aspergillus Niger	Mul- och klövsjuka	Kolera
Pantoea agglomerans (Erwinia herbicola)	Pseudomonas P.	Influenza A-virus
Pest (Yersinia pestis)	Bacillus subtilis	Salmonella choleraesuis (S. enterica)
Fågelinfluensa H5N8	Virala hemorragiska febrar (VHF)	Citrusröta (canker)
Escherichia coli	Rhinovirus, flera stammar	Listeria monocytogenes
Pseudomonas A.	Bovint coronavirus	SEB (stafylokocktoxin)
Fågelinfluensa H5N1	Hepatit A (HAV)	Clostridium botulinum
Felint calicivirus	Ricintoxin	Mycobacterium bovis
Pseudomonas F.	Candida bombicola	S. aureus (MRSA)
Bacillus anthracis	HIV typ 1	Clostridium sporogenes
Smittkoppsvirus	Salmonella enterica	Norovirus
Tularemi (harpest)	Penicillium digitatum	Gula febern-virus

2. Testning på bakterier och mögelsvampar

Tabell 3: Resultat av AOAC Use Dilution-test* (mögelsvampar)

Partnr	Testad art	Resultat
479-110	Staphylococcus Aureus	100 % "dödade"
	Pseudomonas Aeruginosa	
	Salmonella Choraesuis	
479-114	Staphylococcus Aureus	100 % "dödade"
	Pseudomonas Aeruginosa	
	Salmonella Choraesuis	
479-112	Aspergillus Niger	100 % "dödade"
	Penicillium Digitatum	
479-113	Stachybotrys Chartarum	100 % "dödade"

*Vid alla tester användes inokulerade pennicylindrar i porslin enligt testprotokollet

3. Testning på SARS-CoV-virus

SARS (svår akut respiratorisk sjukdom) orsakas av ett coronavirus som förblir smittsamt under längre perioder i miljön. Forskning har genomförts för att utvärdera effekten av dekontamineringsformler som utvecklats av Sandia (som DF-200) i olika koncentrationer mot SARS-coronaviruset. SARS-viruset har nyligen klassificerats i antigengrupp II i familjen *Coronaviridae*. Bovint coronavirus (BCV) användes som en säker ersättning för SARS-viruset för att studera virusinaktiveringen.

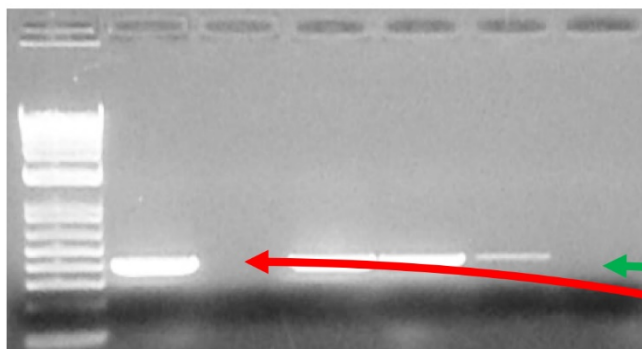


Bild 4: Testning av DF-200 mot coronavirus

Bana 1: DNA-steg, **Bana 2:** Positivt BCV-prov, **Bana 3:** Negativt BCV-prov, **Bana 4:** BCV + 0,1M PBS (TRT Cont), **Bana 5:** BCV + 12,5 % Sandia DF-200D, **Bana 6:** BCV + 25 % Sandia DF-200D, **Bana 7:** BCV + 50 % Sandia DF-200.

APPLICERINGSMETODER – INTELAGARD-UTRUSTNING

EasyDECON® kan appliceras på flera olika sätt och i olika faser för att åstadkomma nödvändig detoxifiering. En praktisk appliceringsform är skumformen. Under det tidiga utvecklingsarbetet låg primärt fokus på att ta fram ett icke-toxiskt, icke-frätande **skum** med förstärkt fysikalisk stabilitet för snabb neutralisering av toxiner, framför allt biologiska ämnen. Sandia använde Intelagards Macaw®-ryggsäck för skumtestning. Skumformeln baserades på ett surfaktantsystem för att öka lösligheten hos låglösliga toxiner och öka reaktionshastigheten med nukleofila reagenser. Formeln innefattade också milda oxiderande ämnen för att neutralisera biologiska toxiner samt komponenter för att förstärka skummets fysikaliska stabilitet.

Den här neutraliseringstekniken var intressant för såväl civila som militära användningsområden av flera skäl, bland annat: (1) att en enda neutraliseringslösning kunde användas mot både kemiska och biologiska toxiner, (2) att den snabbt kunde tas i bruk, (3) att samma effekt kunde uppnås i såväl bulkfas som aerosol- och ångfas; (4) att lösningen medförde minimala hälso- och sidoskador, (5) att den krävde minimalt logistikstöd, (6) att den medförde minimal avrinning av vätskor och inte medförde några bestående miljöeffekter, samt (7) att kostnaden var relativt låg.

Olika metoder som **spray, mist och dimma** kan dessutom åstadkommas med samma grundformel. Syftet med att använda dessa alternativa metoder är att minimera mängden vatten som krävs för att återställa kontrollerade miljöer (till exempel inomhusanläggningar) och göra det lättare för lösningen att komma åt de biologiska ämnena.

De alternativa användningsmetoderna har olika fördelar i förhållande till skummetoden för dekontaminering av små eller svåråtkomliga områden. I ett exempel formulerades den ursprungliga uppfinningen som en vattenbaserad lösning som kunde spridas som en dimma (dvs. en aerosol med partikelstorlekar mellan 1-30 mikrometer) för snabb neutralisering av målkontaminanter. En **dimma** kan användas för att åstadkomma effektiv dekontaminering i områden som svårligen (eller inte alls) kan dekontamineras med skum. Ett exempel är invändig dekontaminering av luftkonditioneringsledning. Dimbildning kan ske vid spjäll och andra öppningar och dimman kan sedan transporteras relativt långt in i ledningen så att svåråtkomliga utrymmen kan dekontamineras. En annan fördel med en dimma är att ett relativt automatiserat eller semiautomatiserat dekontamineringsystem kan installeras på en kontaminerad plats. Fjärrstyrda dimbildare kan placeras i en anläggning och aktiveras med förbestämda intervaller (på distans) för fullständig dekontaminering. Denna metod medför betydligt lägre risker för att dekontamineringspersonal exponeras för kemiska eller biologiska ämnen.

Formeln har låg korrosivitet och låg toxicitet och kan distribueras med hjälp av kommersiellt tillgänglig utrustning för dimbildning. Dagens tillgängliga dekontamineringsmedel bygger på formler med toxiska och/eller frätande kemikalier för att förstöra kemiska och biologiska ämnen, och därför riskerar de att skada känslig utrustning som de kommer i kontakt med.



På Intelagards webbplats finns information om andra typer av appliceringsutrustning, bland annat för sprayning av stora områden samt för dimbildning. Även Intelagard Introductory Briefing⁽⁶⁾ kan ge mer information om detta.

Intelagards Macaw-ryggsäck

RESULTAT OCH DISKUSSION

Omfattande testning av EasyDECON® har visat att produkten har mycket god effekt mot biologiska ämnen och patogener. Även vad gäller mycket livskraftiga sporbildande bakterier har 99,99999 % (7 log) kunnat dödas. För coronavirussimulatorn BCV har fullständig inaktivering kunnat påvisas efter 1 minuts exponering för produktkoncentrationer så låga som 12,5 % av den rekommenderade koncentrationen samt i närvaro av kontaminerande organiskt material som avföring och kompostmaterial.

EasyDECON® dödar patogener genom en kemisk redoxreaktion i stället för ett biologiskt angrepp med hjälp av antikroppar. Detta innebär att patogenerna inte kan utveckla immunitet mot produkten.

Produkten kan appliceras i form av skum, vätska eller dimma, och användaren kan därmed välja den appliceringsmetod som passar bäst för det aktuella området.



SLUTSATSER

1. Dekontamineringsprodukten EasyDECON® har visats kunna döda samtliga biologiska ämnen som den har testats på.
2. Dekontamineringsprodukten EasyDECON® bedöms vara mycket effektiv för fullständig inaktivering av SARS-liknande coronavirus, baserat på resultatet av laborietestet för inaktivering av bovint coronavirus.
3. EasyDECON® kan appliceras i form av skum, vätska eller dimma beroende på vad som är lämpligt för det aktuella området.
4. EasyDECON® är endast lindrigt frätande.
5. EasyDECON® är naturligt nedbrytningsbart.

Den här vitboken har sammanställts av Robert H. Comstock, Senior Chemical Engineer

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Robert H. Comstock", written over a horizontal line.

Underskrift

27 februari 2020

Datum



REFERENSER

1. Uncanny similarity of unique inserts in the 2019-nCoV spike protein to HIV-1 gp120 and Gag, Kusuma School of biological sciences, Indian institute of technology, New Delhi- 110016, Indien samt Acharya Narendra Dev College, University of Delhi, New Delhi-110019, Indien, Prashant Pradhan^{1,2}, Ashutosh Kumar Pandey¹, Akhilesh Mishra¹, Parul Gupta¹, Praveen Kumar Tripathi¹, Manoj Balakrishnan Menon¹, James Gomes¹, Perumal Vivekanandan*¹ och Bishwajit Kundu*¹
2. CORONAVIRUS ISOLATED FROM HUMANS, United States Patent US 7,220,852 B1, Rota et al., 22 maj 2007
3. Inactivation of Various Influenza Strains to Model Avian Influenza (Bird Flu) With Various Disinfectant Chemistries, SANDIA REPORT SAND2005-7633, J. M. Bieker, C. A. Souza och R. D. Oberst
4. Formulations for the Decontamination and Mitigation of CB Warfare Agents, Toxic Hazardous Materials, Viruses, Bacteria and Bacterial Spores, Technical Update Report, EnviroFoam Technologies, Inc., september 2003
5. United States Patent No.: US 7,662,759 B1, patentdatum: 16 feb. 2010, DECONTAMINATION FORMULATION WITH ADDITIVE FOR ENHANCED MOLD REMEDIATION, Uppfinnare: Mark D. Tucker, Albuquerque, NM, (US) Kevin Irvine, Huntsville, AL, (US) Paul Berger, Rome, NY (US); Robert Comstock, Bel Air, MD (US)
6. Intelagard, Inc., 3101 Industrial Lane, Suite C, CO, 80020, USA, +1.303.309.6309, www.intelagard.com. E-post: info@intelagard.com