



Gdańsk 27/12/2021

SPRAWOZDANIE Z ANALIZY WIRUSOBÓJCZOŚCI PRÓBEK FARB

SPRAWOZDANIE nr 1/2021 (stron 6).

1. Wykonawca:

Dr Michał Rychłowski
Dr Piotr Barski
ProChimia Surfaces Sp. z o.o.
Aleja Zwycięstwa 96/98,
office F8
81-451 Gdynia
www.wirusobojczosc.pl

2. Zleceniodawca:

ADR Technology Stanisław Wosiński
80-285 Gdańsk,
ul. Żeleńskiego 18
NIP: 5840400543

3. Przedmiot badań:

Powierzone przez zleceniodawcę próbki farb:

- Farba NoEM (wymalowania na płytkach polistyrenowych o średnicy 6 cm).
- kontrola (płytką polistyrenową o średnicy 6 cm).

4. Wirus testowy:

Bydlęcy Herpeswirus typu 1 (BHV-1), średnica wirionu około 155-175 nm.

Do przeprowadzenia analizy efektywności inaktywacji cząstek wirusowych zastosowano wirusa BHV-1, który podobnie jak SARS CoV-2 jest wirusem osłonkowym, co determinuje jego odporność na środki wirusobójcze.

Wirus rozprzestrzenia się drogą powietrzną, poprzez wydzielinę gruczołów łzowych, ślinę, wydzielinę z jamy nosowej oraz spermę.

BHV-1 charakteryzuje się bardzo wąskim zakresem gospodarzy (zakaża jedynie bydło i owce), przez co praca z nim jest bezpieczna dla ludzi.



5. Metoda badania.

Badanie miało na celu ocenę efektywności inaktywacji cząstek wirusowych przez analizowane próbki farb w czasie: 10 min, 100 min, 24h.

Metodykę oparto na wytycznych zawartych w normie ISO 21702 "Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces".

5.1. Układ prób w eksperymencie:

10 min inkubacji z lizatem wirusowym

- Farba NoEM na płytce polistyrenowej
- kontrolna płytka polistyrenowa

100 min inkubacji z lizatem wirusowym

- Farba NoEM na płytce polistyrenowej
- kontrolna płytka polistyrenowa

24h inkubacji z lizatem wirusowym

- Farba NoEM na płytce polistyrenowej
- kontrolna płytka polistyrenowa

5.2. Zastosowana metodyka:

5.2.1. Inkubacja próbek farb z lizatem wirusowym.

- Na wymalowane powierzchnie płytek (o średnicy 6 cm) naniesiono 0,5ml lizatu wirusowego o mianie 2×10^6 pfu/ml i przykryto skrawkiem folii polipropylenowej (PP) o grubości 0,10mm i powierzchni 4x4cm.

- Płytki umieszczono na mokrej bibule w szalkach Petriego (o średnicy 10 cm) w celu zminimalizowania efektu parowania.

- Tak przygotowane próbki inkubowano na stole w temperaturze pokojowej przez 10 min, 100 min i 24h.



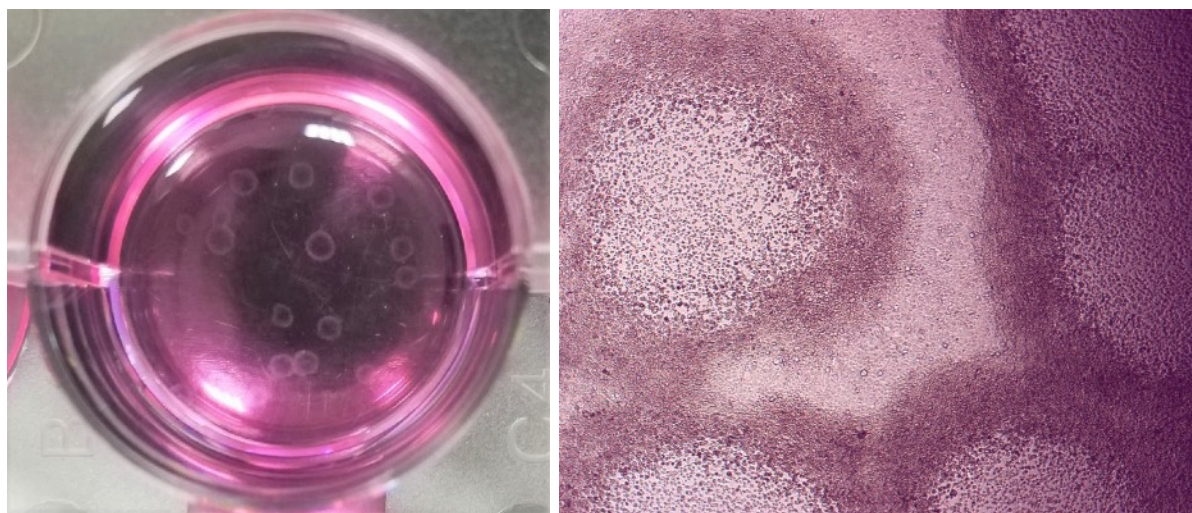
Ryc-1. Próbkki farb i próbkki kontrolne podczas inkubacji w szalkach Petriego.

5.2.2. Miareczkowanie wirusa metodą łysinkową (ang. *plaque size assay*).

- Bezpośrednio po zakończeniu inkubacji, ostrożnie zabierano lizat wirusowy z nad próbek farb i poddano go miareczkowaniu.
- Miareczkowanie wykonywano w hodowli jednowarstwowej komórek MDBK na płytkach 12-dotkowych.
- Seryjne rozcieńczenia wykonywano w pożywce RPMI z dodatkiem 8% FBS (do 900 μ l pożywki przenoszono 100 μ l lizatu wirusowego zebranego po inkubacji).
- Po zebraniu pożywki z nad komórek, nakładano na nie 500 μ l lizatu wirusowego w odpowiednich rozcieńczeniach i inkubowano 1 h (37°C / 5%CO₂).
- Po 1h inkubacji, lizat wirusowy zbierano z nad komórek. Następnie, na hodowlę komórek nanoszono 1,5 ml 1% roztworu metylocelulozy w pożywce hodowlanej i inkubowano przez 6 dni (37°C / 5%CO₂) w celu uwidocznienia łysinek wirusowych.



Ryc-2. Komórki MDBK na płytkach 12-dotkowych w inkubatorze CO₂.



Ryc-3. Łysinki wirusowe widoczne na płytkach 12-dotkowych i w mikroskopie świetlnym.



6. Wyniki.

Tabela-1

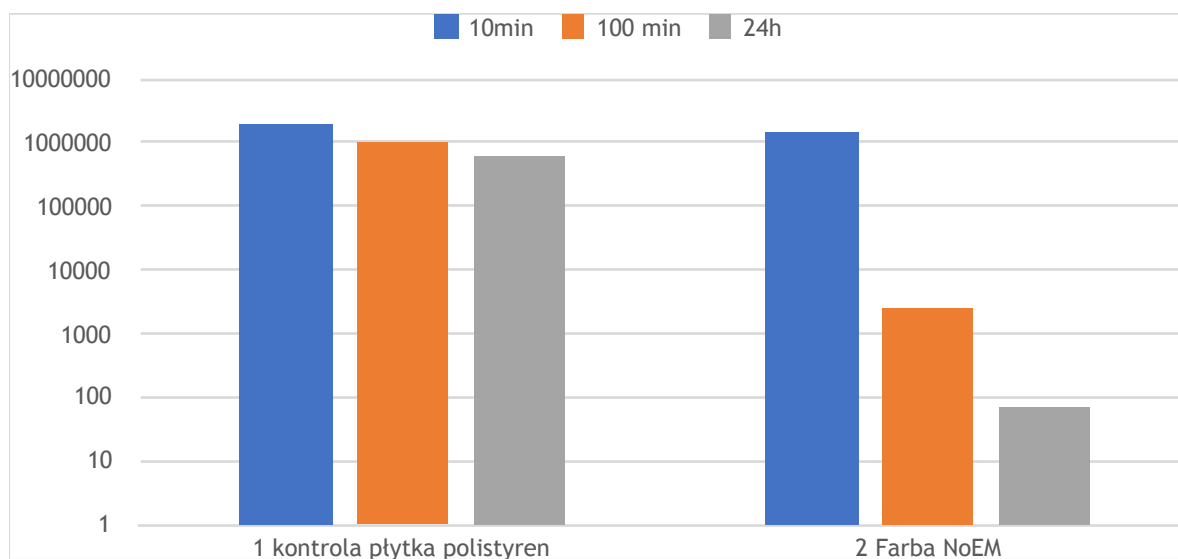
Ilość aktywnych cząstek wirusowych pozostających w lizacie po inkubacji z badanym materiałem (PFU/ml). Średnia z dwóch niezależnych powtórzeń biologicznych.

Próbka	10 min	100 min	24 h
Kontrola	2×10^6	1×10^6	6×10^5
Farba NoEM	$1,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^3$	7×10

Tabela-2

Wykres słupkowy - skala logarytmiczna.

Ilość aktywnych cząstek wirusowych pozostających w lizacie po inkubacji z badanym materiałem. Średnia z dwóch niezależnych powtórzeń biologicznych.





7. Wnioski:

Zdolność badanego produktu do inaktywacji wirusa testowego (BHV-1) jest określana na podstawie spadku jego miana zakaźnego, spowodowanego kontaktem z badanym materiałem. Jako kryterium wirusobójczego działania testowanego produktu wobec danego wirusa przyjmuje się spadek miana zakaźnego wirusa po 24h inkubacji o co najmniej 2 log. (różnica w skali logarytmicznej pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w próbie kontrolnej, a mianem zakaźnym wirusa po inkubacji z badanym materiałem).

Farba NoEM, już po 100 min inkubacji z lizatem wirusowym powoduje spadek jego miana zakaźnego w porównaniu do kontroli o ponad 2 log.

Po 24h inkubacji spadek miana zakaźnego wirusa to 4log w stosunku do kontroli.

Badanie wykazało znaczący potencjał wirusobójczy farby NoEM z rekomendacją do certyfikacji.

Prezes Zarządu ProChimia Surfaces Sp. z o.o.
Piotr Barski



7. Wnioski:

Zdolność badanego produktu do inaktywacji wirusa testowego (BHV-1) jest określana na podstawie spadku jego miana zakaźnego, spowodowanego kontaktem z badanym materiałem. Jako kryterium wirusobójczego działania testowanego produktu wobec danego wirusa przyjmuje się spadek miana zakaźnego wirusa po 24h inkubacji o co najmniej 2 log. (różnica w skali logarytmicznej pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w próbie kontrolnej, a mianem zakaźnym wirusa po inkubacji z badanym materiałem).

Farba NoEM, już po 100 min inkubacji z lizatem wirusowym powoduje spadek jego miana zakaźnego w porównaniu do kontroli o ponad 2 log.

Po 24h inkubacji spadek miana zakaźnego wirusa to 4log w stosunku do kontroli.

Badanie wykazało znaczący potencjał wirusobójczy farby NoEM z rekomendacją do certyfikacji.

Prochimia Surfaces sp. z o.o.
Aleja Zwycięstwa 96/98, pok. F8
81-451 Gdynia
NIP 585-141-91-73 Regon 220121035
KRS 0000242574

Prezes Zarządu ProChimia Surfaces Sp. z o.o.
Piotr Barski