



Uniwersytet Gdański

ul. Jana Bażyńskiego 8, 80-309 Gdańsk

Laboratorium Badawczo-Wdrożeniowe MWB UG i GUMed

ul. Podwale Przedmiejskie 20, 80-824 Gdańsk

SPRAWOZDANIE Z BADAŃ NR 01/R/2022

Nazwa i adres Zleceniodawcy: Pigment Sp.j.
ul. Pyrzycka 23a
70-892 Szczecin

Numer zlecenia: 10/21

Przedmiot badań:

Powierzone przez zleceniodawcę próbki - płytki szklane:

IN – płytka szklana 5x5cm pokryta fotokatalityczną farbą TITANIUM

K – kontrola, płytka szklana 5x5cm.

Wirus testowy:

Bydłęcy 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 spernę.

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

Metoda badania.

Badanie miało na celu ocenę efektywności inaktywacji cząstek wirusowych przez analizowane próbki farb.

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

W celu sprawdzenia różnych możliwości inaktywacji cząstek wirusowych, testy przeprowadzono w kilku wariantach:

Próbki IN

10 min inkubacji bez naświetlania (w ciemności)

10 min inkubacji z naświetlaniem (światło świetlówek Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS)

10 min inkubacji z naświetlaniem (światło lampy Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips)

60 min inkubacji bez naświetlania (w ciemności)

60 min inkubacji z naświetlaniem (światło świetlówek Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS)

60 min inkubacji z naświetlaniem (światło lampy Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips)

24 h inkubacji bez naświetlania (w ciemności)

24 h inkubacji z naświetlaniem (światło świetlówek Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS)

24 h inkubacji z naświetlaniem (światło lampy Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips)

KONTROLA

10 min inkubacji bez naświetlania (w ciemności)

10 min inkubacji z naświetlaniem (światło świetlówek Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS)

10 min inkubacji z naświetlaniem (światło lampy Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips)

60 min inkubacji bez naświetlania (w ciemności)

60 min inkubacji z naświetlaniem (światło świetlówek Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS)

60 min inkubacji z naświetlaniem (światło lampy Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips)

24 h inkubacji bez naświetlania (w ciemności)

24 h inkubacji z naświetlaniem (światło świetlówek Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS)

24 h inkubacji z naświetlaniem (światło lampy Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips)

Zastosowana metodyka:

1. Próbkki materiałów

IN – płytka szklana 5x5cm pokryta fotokatalityczną farbą TITANIUM

K – kontrola, płytka szklana 5x5cm.

2. Inkubacja próbek farb z lizatem wirusowym

- W otwartych szalkach Petriego (o średnicy 10 cm) umieszczono płytki szklane IN oraz płytki KONTROLNE.

- Na powierzchnie naniesiono 0,5ml lizatu wirusowego o mianie 2×10^6 pfu/ml i przykryto przepuszczającym światło skrawkiem folii polipropylenowej (PP) o grubości 0,10mm

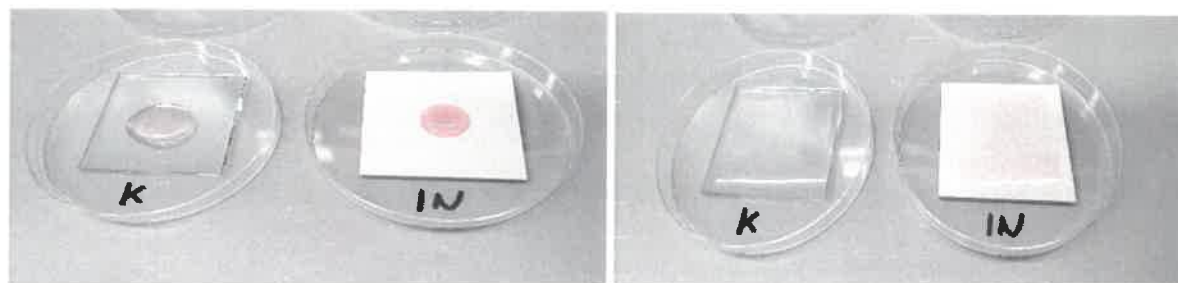
- Tak przygotowane próbki inkubowano przez 10 min, 60 min lub 24h.

- Inkubacje prowadzono w trzech wariantach:

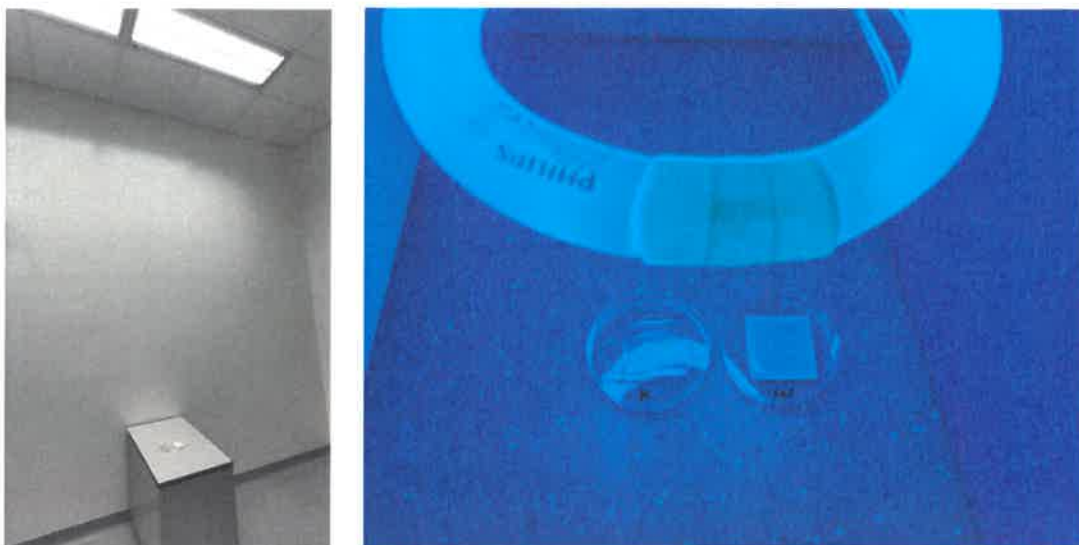
- w ciemności

- z naświetlaniem świetlówką Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips (odległość 30cm)

- z naświetlaniem świetlówkami sufitowymi Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS (odległość 260cm).



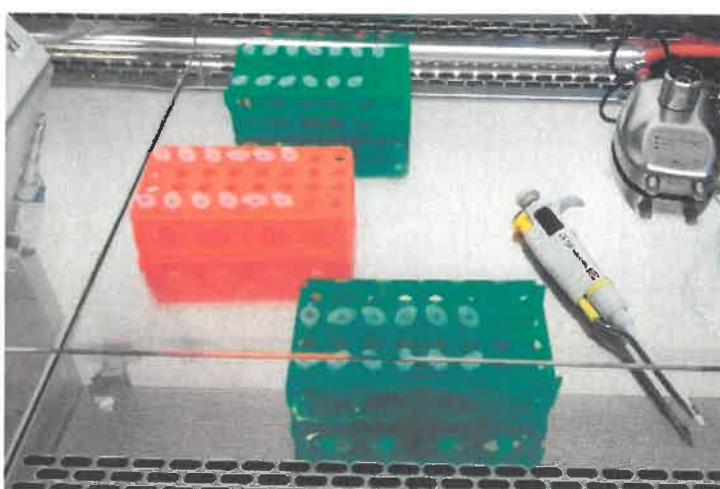
Ryc-1. Próbkki z naniesionym lizatem wirusowym, przed i po przykryciu folią PP.



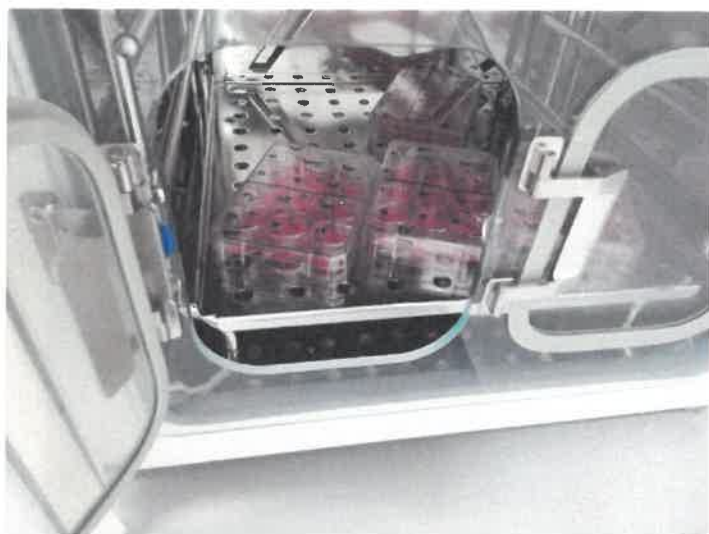
Ryc-2. Próbkę podczas inkubacji z naświetlaniem, po lewej świetlówki sufitowe Vossloh Schwabe RoHS T5HE 4000K 38W 4LS, po prawej Actinic BL TL-E 22W/10 1CT/20 Philips.

3. Miareczkowanie wirusa metodą łysinkową (ang. plaque size assay)

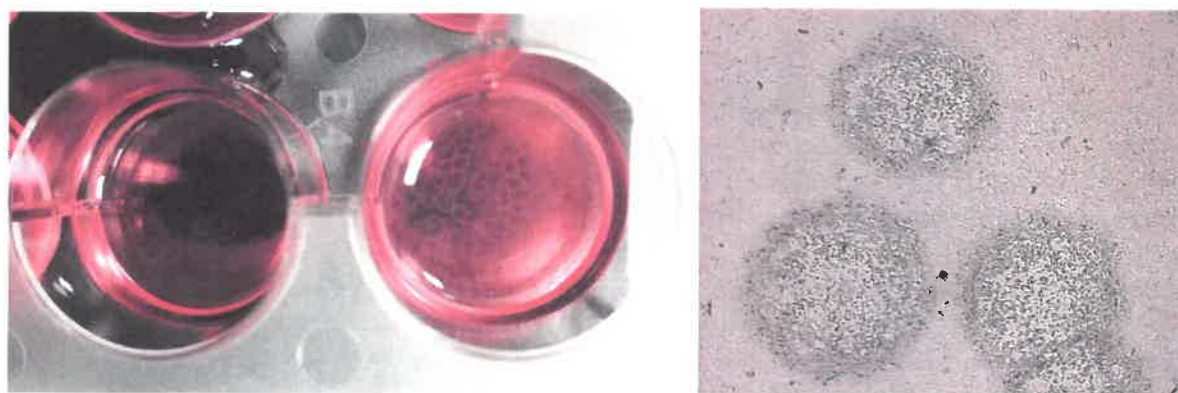
- Bezpośrednio po zakończeniu inkubacji, ostrożnie zabierano lizat wirusowy znad próbek farb i poddano go miareczkowaniu.
- Miareczkowanie wykonywano w hodowli jednowarstwowej komórek MDBK na płytkach 12-dółkowych.
- Seryjne rozcieńczenia wykonywano w pożywce RPMI z dodatkiem 8% FBS (do 900 μ l pożywki przenoszono 100 μ l lizatu wirusowego zebranego po inkubacji).
- Po zebraniu pożywki znad 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 znad 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-3. Seryjne rozcieńczenia lizatu wirusowego wykonywane w komorze laminarnej.



Ryc-4. Komórki MDBK na płytkach 12-dółkowych w inkubatorze CO2.



Ryc-5. Łysinki wirusowe widoczne na płytkach i w mikroskopie świetlnym.

Wyniki badań:

Tabela-1

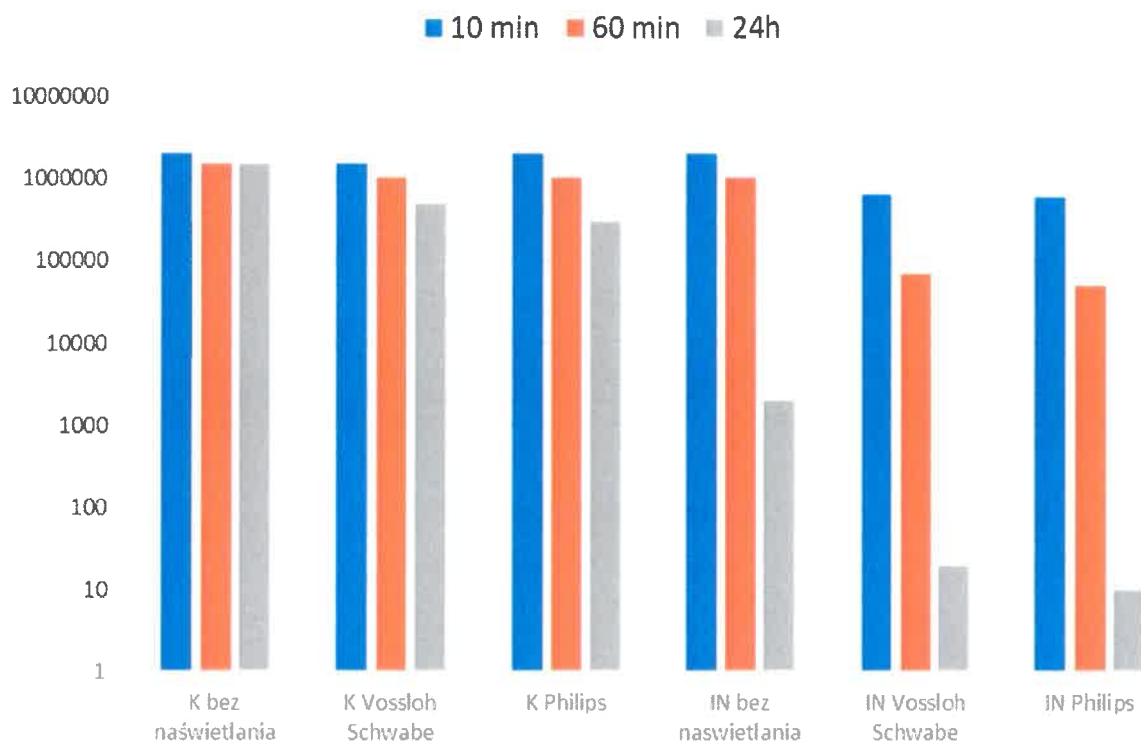
Ilość aktywnych cząstek wirusowych pozostających w lizacie wirusowym po inkubacji z badanym materiałem (PFU/ml). Średnia z dwóch niezależnych powtórzeń biologicznych.

	W ciemności 10 min	W ciemności 60 min	W ciemności 24h	Vossloh Schwabe 10 min	Vossloh Schwabe 60 min	Vossloh Schwabe 24h	Philips 10 min	Philips 60 min	Philips 24h
IN	2×10^6	1×10^6	2×10^3	$6,5 \times 10^5$	7×10^4	20	6×10^5	5×10^4	10
Kontrola	2×10^6	$1,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	1×10^6	5×10^5	2×10^6	1×10^6	3×10^5

Tabela-2

Wykres słupkowy - skala logarytmiczna.

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



Po 10 min inkubacji lizatu wirusowego z próbkami IN (farba Titanium) przy naswietlaniu światłem świetlówek sufitowych Vossloh Schwabe (standardowe oświetlenie w pomieszczeniach użyteczności publicznej) lub Actinic BL Philips, wykazała niewielkie działanie wirusobójcze.

Po 60 min inkubacji lizatu wirusowego z próbkami IN (farba Titanium) przy naswietlaniu światłem świetlówek sufitowych Vossloh Schwabe lub Actinic BL Philips, miano zakaźne wirusa testowego wyraźnie spadało (ponad 1 log). Miano zakaźne wirusa umieszczonego na szklanych płytkach kontrolnych nie uległo znaczącej zmianie.

Po wydłużeniu czasu inkubacji naswietlanych próbek IN (farba Titanium) z lizatem wirusowym do sugerowanych w normie (ISO 21702) 24 godzin, spadek miana zakaźnego wirusa w stosunku do kontroli był zdecydowany i wyniósł ponad 4 log.

Próbki IN (farba Titanium) inkubowane z lizatem wirusowym bez naswietlania także spowodowały znaczny spadek miana zakaźnego wirusa o 3 log w stosunku do kontroli.

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).

Fotokatalityczna farba TITANIUM po 24h inkubacji z lizatem wirusowym powoduje spadek jego miana zakaźnego w porównaniu do kontroli o 4 log (z naswietlaniem). Spadek miana

zakaźnego wirusa w porównaniu do kontroli nawet bez naświetlania (w ciemności) jest wysoki i wynosi 3 log.

Badanie wykazało znaczący potencjał wirusobójczy farby TITANIUM wobec wirusów osłonkowych (np.: Wirusy Grypy, Koronawirusy) z rekomendacją do certyfikacji.

Badania wykonali:

dr Michał Rychłowski
mgr Natalia Derewońko
(Zakład Biologii Molekularnej Wirusów
Instytut Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego)

Autoryzował:

Wojciech Śledź

23/02/2022
Wojciech Śledź
(Data i podpis)

Zatwierdził:

Ewa Łojkowska

Laboratorium Badawczo-Wdrożeniowe
MWB UG i GUMed

Ewa Łojkowska
(Data i podpis)
23/02/2022

Rozdzielnik:

1. Zleceniodawca
2. a/a

Wyniki badań odnoszą się wyłącznie do otrzymanych próbek. Sprawozdanie z badań stanowi integralną całość i bez pisemnej zgody laboratorium nie może być kopiowane inaczej jak w całości. Wszelkie informacje potrzebne do interpretacji wyników, a nie umieszczone w sprawozdaniu z badań są dostępne w laboratorium. Klient ma prawo do złożenia skargi w terminie do 14 dni od daty otrzymania sprawozdania z badań.

Laboratorium Badawczo - Wdrożeniowe
MWB UG i GUMed
ul. Podwale Przedmiejskie 20
80-224 Gdańsk, Polska
tel. (+48) 58 324 62 00
e-mail: biotech@ug.edu.pl
603297737

-Koniec sprawozdania-