

Państwowy Zakład Higieny
Instytut Naukowo - Badawczy
Zakład Wirusologii
ul. Chocimska 24
00-791 Warszawa

Warszawa, 02.03.1995

EW/216/85

Laboratoryjne oznaczanie wirusobójczego działania
preparatu dezynfekcyjnego **Puristeril-340** wykonane na
modelu wirusa herpes simplex typu 1.

Zgodnie ze zleceniem firmy **COMPOL AG** (00-739 Warszawa, ul. Stępińska 22/30) przetestowano wirusobójcze działanie preparatu dezynfekcyjnego **Puristeril-340**. Badania wykonano na modelu wirusa herpes simplex. Wirus herpes simplex zbudowany jest z kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA), osłoniętego białkowym kapsydem. Wirus oprócz nukleokapsydu zawiera tegument oraz glikoproteinową osłonkę.

WIRUS - herpes simplex typu 1 (HSV-1), szczep McIntyre. Wirus po namnożeniu przechowywano w temperaturze -70°C .

HODOWLA KOMÓRKOWA - linia ciągła CV-1 wyprowadzona z komórek nerki małpiej

PLYN WZROSTOWY - podłoże Eagle'a wzbogacone 4% płodowej surowicy cielęcej i 3% L-glutaminy.

MIANO INFEKCYJNE WIRUSA - oznaczano w probówkach zawierających hodowlę komórkową. Hodowlę CV-1 zakażano kolejnymi rozcieńczeniami wirusa w objętości 0.2 ml, po 5 probówek na każde rozcieńczenie wirusa. Hodowle inkubowano w 37°C . Efekt cytopatyczny obserwowano w mikroskopie świetlnym, a miano infekcyjnego wirusa obliczano według metody Reeda i Muencha.

OZNACZANIE TOKSYCZNOŚCI PREPARATU PURISTERIL-340 DLA HODOWLI TKANKOWEJ

Przygotowano mieszaninę złożoną z buforowanego roztworu soli fizjologicznej (PBS) i preparatu dezynfekcyjnego **Puristeril-340** w stężeniu 3%. Z tak przygotowanej zawiesiny sporządzono rozcieńczenia w szeregu logarytmicznym identycznie jak w przypadku oznaczania miana infekcyjnego wirusa. Kolejne rozcieńczenia w objętości 0.2 ml oraz 1.8 ml płynu utrzymującego dodawano do probówek z hodowlą komórkową. Hodowle inkubowano w temp. 37°C , a wzrost komórek obserwowano w mikroskopie świetlnym. Stwierdzono, że **Puristeril-340** w badanym stężeniu jest toksyczny dla hodowli komórkowej w rozcieńczeniu $10^{-2.0}$.

OZNACZANIE WIRUSOBÓJCZEGO DZIAŁANIA PREPARATU DEZYNFEKCYJNEGO PURISTERIL-340

Badania wykonano w mieszaninie zawiesiny wirusa i środka dezynfekcyjnego. Zdolność preparatu **Puristeril-340** do inaktywacji wirusa HSV-1 określano bez oraz z obciążeniem białkowym. Jako preparat białkowy zastosowano płodową surowicę cielęcą oraz albuminę bydlęcą. Wykonanie badania: 1 część zawiesiny wirusa łączono z 1 częścią płodowej surowicy cielęcej względnie z 1 częścią albuminy bydlęcej lub wody oraz z 8 częściami odpowiedniego stężenia preparatu. Końcowe rozcieńczenie surowicy cielęcej wynosiło 10%, albuminy bydlęcej 0.2%, a preparatu **Puristeril-340** 3 %. Uzyskane zawiesiny inkubowano w temp. pokojowej. Czas inkubacji wynosił 5, 15 i 30 minut. Po tym czasie przygotowano szereg dziesiętnych rozcieńczeń inkubowanej zawiesiny w PBS z dodatkiem 5% płodowej surowicy cielęcej i zakażano próbówki z hodowlą komórkową a' 0.2 ml. Hodowle inkubowano w temp. 37°C.

BADANIA KONTROLNE. Wykonano je równolegle z podstawowymi oznaczeniami. Określano w nich miano infekcyjne wirusa w identycznych warunkach jak w teście właściwym lecz bez zastosowania preparatu . **Kontrola I:** 1 część zawiesiny wirusa + 1 część płodowej surowicy cielęcej /albuminy + 8 części jałowej wody destylowanej. **Kontrola II:** 1 część wirusa + 9 części jałowej wody destylowanej. Mieszaniny inkubowano w temp. pokojowej w tym samym czasie co próby badane, a następnie przygotowywano rozcieńczenia w PBS z 5% płodowej surowicy cielęcej. Hodowle po zakażeniu inkubowano w temp. 37°C.

OBLICZANIE WIRUSOBÓJCZEGO DZIAŁANIA PREPARATU PURISTERIL-340

Zdolność inaktywacji wirusa obliczano na podstawie różnicy pomiędzy wielkością miana infekcyjnego wirusa w próbach kontrolnych, a wysokością miana w próbach zawierających określone rozcieńczenie badanego preparatu. Jako kryterium inaktywującego działania środka dezynfekcyjnego przyjmowano spadek miana infekcyjnego wirusa o 4 log.

WYNIKI

Oznaczenia wirusobójczej aktywności wykonano z preparatem **Puristeril-340**, którego stężenie wynosiło 3%.. Czas inkubacji mieszaniny preparatu z wirusem wynosił 5, 15 i 30 minut

Wyniki przeprowadzonych oznaczeń przedstawiono w tabeli.

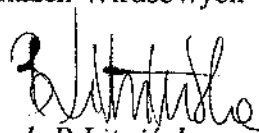
Wirusobójcze działanie mieszanki preparatu dezynfekcyjnego
Puristeril-340 na wirusa herpes simplex.

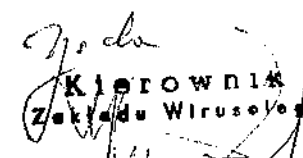
Stężenie preparatu	Czas inkub.	Miano infekcyjne wirusa (TCID ₅₀) w mieszaninie z :			Miano infekcyjne (TCID ₅₀) kontroli wirusa
		p.s.c.	alb. b.	H ₂ O	
3%	5 min.	<2.0	<2.0	<2.0	6.15
3%	15 min.	<2.0	<2.0	<2.0	6.15
3%	30 min.	<2.0	<2.0	<2.0	6.15

p.s.c - płodowa surowica cielęca
alb. b. - albumina bydlęca

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że preparat dezynfekcyjny **Puristeril-340** w badanym czasie i stężeniu w temperaturze pokojowej inaktywuje wirusa herpes simplex.

Kierownik Pracowni Immunologii
Zakażeń Wirusowych


dr B. Litwińska


Kierownik
Zakładu Wirusologii
Prof. dr hab. med. Mirosław Kosiński