

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

Warszawa, 06.03.1995

EW/226/95

Laboratoryjne oznaczanie wirusobójczego
działania preparatu dezynfekcyjnego
Puristeril-340 wykonane na modelu
adenowirusa.

Zgodnie ze zleceniem firmy **ComPol** (00-739 Warszawa, ul. Stępińska 22/30) przetestowano wirusobójcze działanie preparatu dezynfekcyjnego **Puristeril-340**. Badania wykonano na modelu adenowirusa. Adenowirus zbudowany jest z kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA), osłoniętego białkowym kapsydem. Wirus nie posiada osłonki.

WIRUS - adenowirus typ 5. Wirus po namnożeniu przechowywano w temperaturze -70°C.

HODOWLA KOMÓRKOWA - linia ciągła HeP-2 wyprowadzona z ludzkich komórek nowotworowych raka krtani.

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

MIANO INFEKCYJNE WIRUSA - oznaczano w próbkach zawierających hodowlę komórkową. Hodowlę HeP-2 zakażano kolejnymi rozcieńczeniami wirusa w objętości 0.2 ml, po 5 próbek na każde rozcieńczenie wirusa. Hodowlę inkubowano w 37°C. Efekt cytopatyczny obserwowano w mikroskopie świetlnym, a miano infekcyjne 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 próbek z hodowlą komórkową. Hodowlę inkubowano w temp. 37°C, a wzrost komórek obserwowano w mikroskopie świetlnym. Stwierdzono, że

preparat dezynfekcyjny **Puristeril-340** w badanych stężeniach 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 adenowirusa 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 15 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

WYNIKI

Oznaczenia wirusobójczej aktywności z preparatu dezynfekcyjnego **Puristeril-340** wykonano z preparatem w stężeniu 3% . Czas inkubacji mieszaniny preparatu z wirusem wynosił 15 minut.

Wyniki przeprowadzonych oznaczeń przedstawiono w tabeli.

Wirusobójcze działanie mieszanki preparatu dezynfekcyjnego **Puristeril-340** na adenowirusa

Stężenie preparatu	czas inkubacji	Miano infekcyjne wirusa (TCID ₅₀) w mieszaninie z:			Miano infekcyjne kontroli wirusa (TCID ₅₀)
		p.s.c.	alb.b.	H ₂ O	
3%	15min.	<3.0	<3.0	<3.0	7.0


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 adenowirusa.

Kierownik Pracowni Immunologii
Zakażeń Wirusowych


dr B. Litwińska


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