



RAPORT KOŃCOWY

Ocena działania przeciwwirusowego tworzyw sztucznych i powierzchni nieporowatych wg normy ISO 21702:2019(E)

Zleceniodawca: INNOVATOR Sp. z o.o., ul. Sowińskiego 5, 44-100 Gliwice.

Konsultacja i podzlecenie: M&R LAB, Microbiology & Research, Renata Szczygłowska, Lipnik 2, 63-507 Kobyła Góra.

Producent: ALPHA Construction AG, Bahnhofstrasse 20; 6300 Zug; Switzerland.

Cel badań: Rozpoznanie działania przeciwwirusowego powierzchni badanych próbek.

Próbki badane: Powłoki PSC różniące się substancjami czynnymi.

Nazwa produktu:

A. 2/2021

Powłoka PSC 250 T, zawierająca jako substancje czynne: mieszanina poreakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [nr WE 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [nr WE 220-239-6] (3:1)) WE: -, CAS: 55965-84-9 w podanej zawartości: 2 g/1000g gotowego płynnego produktu, MKB-3 CAS: 26530-20-1 w podanej zawartości: 5 g/1000g gotowego płynnego produktu.

Producent: ALPHA Construction AG.

Data produkcji: 21.01.2021.

Nr serii: 2021/20/01.

Data przydatności: 2 lata.

Opis produktu/przeznaczenie: -nano-powłoka termoizolacyjna PSC przeznaczona do izolacji termicznej.

B. 3/2021

Powłoka PSC 250 T zawierająca jako substancje czynne: mieszanina poreakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [nr WE 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [nr WE 220-239-6] (3:1)) WE: -, CAS: 55965-84-9 w podanej zawartości: 2 g/1000g gotowego płynnego produktu, MKB-3 CAS: 26530-20-1 w podanej zawartości: 5 g/1000g gotowego płynnego produktu, srebro (jako nanomateriał) CAS: 7440-22-4. w podanej zawartości: CAS: 7440-22-4: 10 g/1000g gotowego płynnego produktu.

Producent: ALPHA Construction AG.

Data produkcji: 21.01.2021.

Nr serii: 2021/20/01 Data przydatności: 2 lata.

Opis produktu/przeznaczenie: nano-powłoka termoizolacyjna PSC przeznaczona do izolacji termicznej.

C. 4/2021

Powłoka PSC 250 T zawierająca jako substancje czynne: mieszanina poreakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [nr WE 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [nr WE 220-239-6] (3:1)) WE: -, CAS: 55965-84-9 w podanej zawartości: 2 g/1000g gotowego płynnego produktu, MKB-3 CAS: 26530-20-1 w



podanej zawartości: 5 g/1000g gotowego płynnego produktu, miedź (jako nanomateriał) CAS: 7440-50-8
10g/1000g gotowego płynnego produktu.

Producent: ALPHA Construction AG.

Data produkcji: 21.01.2021.

Nr serii: 2021/20/01.

Data przydatności: 2 lata.

Opis produktu/przeznaczenie: nano-powłoka termoizolacyjna PSC przeznaczona do izolacji termicznej.

D. Próbki kontrolne: PET bez substancji czynnych

Warunki przechowywania (temp. i in.): temperatura pokojowa

Data dostarczenia produktu: 01-02-2021

Materiały i warunki testowe:

Próbka traktowana	PE, 50 mm kwadrat, z substancją czynną, 0,2 mm grubości
Próbka nietraktowana	PET, 50 mm kwadrat, bez substancji czynnej, 0,5 mm grubości
Film kryjący	PP, 40 mm kwadrat, 0,04 – 0,05 mm grubości
Wirus testowy	Wirus grypy typu A (H1N1) A/PR/8/34; ATCC-VR-1469™
Linia komórkowa	Komórki prawidłowe nerki psa, MDCK (NBL-2), ATCC® CCL34
Objętość inokulum testowego	0,2 ml
Miano inokulum testowego	$2,2 \times 10^7$ pfu/ml; $4,4 \times 10^6$ pfu w inokulum testowym
Temperatura testu	25°C; >90% wilgotności
Czas kontaktu	4h
Temperatura inkubacji	34°C/1h

Uwagi: Neutralizer (SCDLP) bez dodatku Tweenu przygotowano poprzez rozpuszczenie 15,5 g SCDLP w 500 ml wody destylowanej, który następnie autoklawowano w 121 °C przez 15 min. Skład neutralizera został zmodyfikowany z powodu widocznego efektu toksycznego względem linii komórkowej.

Komórki barwiono 0,3 ml 1% fioletem krystalicznym w 20% etanolu przez 15 min w temperaturze pokojowej.

Pozostałe procedury bez zmian.

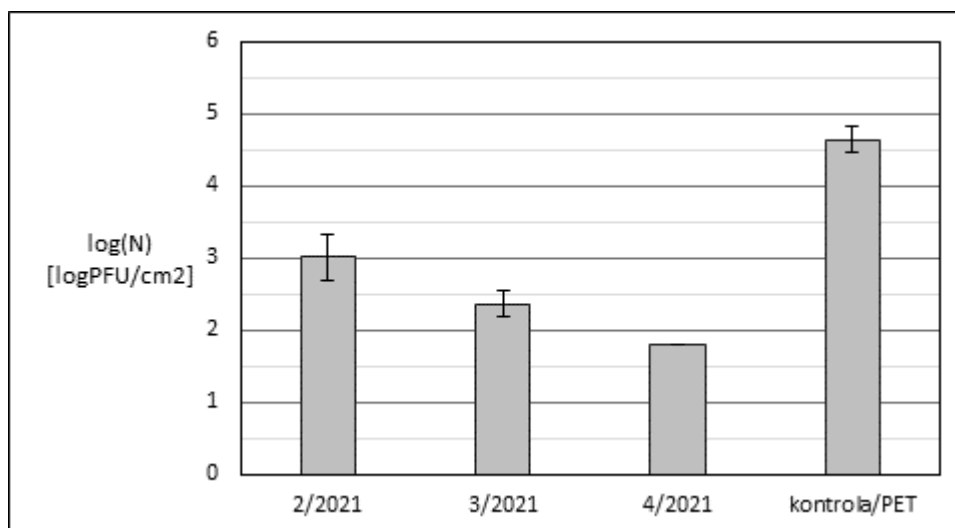


WYNIKI

Tabela 1. Surowe dane dla produktów 2/2021; 3/2021; 4/2021 przetestowane względem A/H1N1

Próbka	D	Liczba łyseinek	N	log(N)	R	SD	% inaktywacji
			PFU/cm ²				
2/2021 próbka traktowana	10	36	2,25E+03	3,35	1,29		
		25	1,56E+03	3,19	1,45		
		12	7,50E+02	2,88	1,76		
		4	2,50E+02	2,40	2,24		
		7	4,38E+02	2,64	2,00		
		14	8,75E+02	2,94	1,70		
Średnia		16,33	1,02E+03	3,01	1,63	0,32	97,67%
3/2021 próbka traktowana	10	4	2,50E+02	2,40	2,24		
		4	2,50E+02	2,40	2,24		
		2	1,25E+02	2,10	2,54		
		7	4,38E+02	2,64	2,00		
		3	1,88E+02	2,27	2,37		
		2	1,25E+02	2,10	2,54		
Średnia		3,67	2,29E+02	2,36	2,28	0,19	99,48%
4/2021 próbka traktowana	10	<1	6,25E+01	1,80	2,84		
		<1	6,25E+01	1,80	2,84		
		<1	6,25E+01	1,80	2,84		
		<1	6,25E+01	1,80	2,84		
		<1	6,25E+01	1,80	2,84		
		<1	6,25E+01	1,80	2,84		
Średnia		<1	6,25E+01	1,80	2,84	0,00	99,86%
PET próbka nietraktowana	10 ³	7	4,38E+04	4,64			
		5	3,13E+04	4,49			
		5	3,13E+04	4,49			
		15	9,38E+04	4,97			
		5	3,13E+04	4,49			
		5	3,13E+04	4,49			
Średnia		7,00	4,38E+04	4,64			

D – rozcieńczenie inokulum w dołku, które zostało uwzględnione w obliczeniach
 N [PFU/cm²] – miano infekcyjne wirusa odzyskanego w teście
 R [logPFU/cm²] – aktywność przeciwwirusowa wyliczona zgodnie z równaniem:
 $R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t$
 dla próbek badanych $\log(N) = A_t$
 dla próbki kontrolnej $\log(N) = U_t$
 U₀ – średnia z logarytmu dziesiętnego miana infekcyjnego odzyskanego natychmiast po inokulacji z trzech powtórzeń dla nietraktowanej próbki: U₀=5,28 logPFU/cm²
 SD – odchylenie standardowe



Rycina 1. Średnie wartości logPFU/cm² dla ludzkiego wirusa grypy A/H1N1 po 4-godzinnym czasie kontaktu z materiałami testowymi i kontrolnymi. Słupki błędów są odchyleniem standardowym.

WNIOSKI

Na podstawie przedstawionych rezultatów badań i zgodnie z ISO21702, badane materiały wykazują działanie wirusobójcze przeciwko ludzkiemu wirusowi grypy typu A/H1N1 (A/PR/8/34) po czasie kontaktu wynoszącym 4 godziny. Aktywność przeciwwirusowa wyniosła odpowiednio:

2/2021 R= 1,63 (redukcja miana wirusa 97,67%)

3/2021 R= 2,28 (redukcja miana wirusa 99,48%)

4/2021 R= 2,84 (redukcja miana wirusa 99,86%).

Wyniki testów kontrolnych potwierdzają, że badane materiały nie są cytotoksyczne dla badanych komórek za wyjątkiem próbki 4/2021 (cytotoksyczność nierozcieńczonego neutralizera odzyskanego z próbki). Ponadto badane próbki nie wpływają na wrażliwość komórek na zakażenie wirusem testowym, w związku z czym eksperyment spełnia wymogi ważnego testu ISO21702. Aktywność preparatu wobec A/H1N1 wskazuje na skuteczność także wobec np. H5N8, H5N1 (działanie wobec wirusa grypy typu A (czynnik etiologiczny: wirus z rodziny *Orthomyxoviridae*, rodzaju *Influenzavirus*, w którym znajdują się m.in. wirusy ptasiej grypy np. H5N8, H5N1).

Dr Marta Sochocka

Mgr inż. Michał Ochnik

Wrocław, 07-06-2021