



Danzig 27/12/2021

## BERICHT ÜBER DIE ANALYSE DER VIRUSBESTÄNDIGKEIT VON LANDWIRTSCHAFTEN

### BERICHT Nr. 1/2021 (Seite 4).

#### 1. Auftragnehmer:

Dr. Michał Rychłowski  
Dr. Piotr Barski  
ProChimia Surfaces Sp. z o.o.  
96/98 Zwycięstwa Avenue,  
Büro F8  
81-451 Gdynia\_  
[www.wirusobojczosc.pl](http://www.wirusobojczosc.pl)

#### 2. Direktorin:

ADR-Technologie Stanisław Wosiński  
80-285 Gdańsk,  
Żeleńskiego-Straße 18  
NIP: 5840400543

#### 3. Studienfach:

Vom Kunden zur Verfügung gestellte Farbmuster:

- NoEM-Farbe (gemalt auf Polystyrolplatten mit 6 cm Durchmesser).
- Kontrolle (Polystyrolplatte mit einem Durchmesser von 6 cm).

#### 4. Virus testen:

Bovines Herpesvirus Typ 1 (BHV-1), viraler Durchmesser etwa 155-175 nm.

Das BHV-1-Virus, das wie SARS CoV-2 ein umhülltes Virus ist, was seine Resistenz gegen viruzide Mittel bestimmt, wurde zur Analyse der Effizienz der Inaktivierung von Viruspartikeln verwendet.

Das Virus wird über die Luft, die Sekrete der Tränendrüsen, den Speichel, die Sekrete der Nasenhöhle und das Sperma verbreitet.

BHV-1 hat ein sehr enges Wirtsspektrum (es infiziert nur Rinder und Schafe), so dass der Umgang mit dem Virus für den Menschen sicher ist.



## 5. Erhebungsmethode.

Mit der Studie sollte die Wirksamkeit der Inaktivierung von Viruspartikeln durch die untersuchten Farbproben nach: 10 min, 100 min, 24 h.

Die Methodik basierte auf den Leitlinien der ISO 21702 "Messung der antiviralen Aktivität auf Kunststoffen und anderen nicht porösen Oberflächen".

### 5.1. Versuchsaufbau des Experiments:

- NoEM-Farbe auf Styroporplatte
- Kontrolle saubere Polystyrolplatte

Inkubationszeit mit viralen Lysaten 10 min, 100 min, 24 h.

### 5.2. Angewandte Methodik:

#### 5.2.1. Inkubation von Farbproben mit viralen Lysaten.

- 0,5 ml Viruslysat mit einem **Titer von  $2 \times 10^6$  pfu/ml** wurden auf die bemalten Oberflächen der Platten (6 cm Durchmesser) aufgetragen und mit einem 0,1 mm dicken Stück Polypropylenfolie (PP) mit einer Fläche von 4x4 cm bedeckt.
- Die Platten wurden auf feuchtem Seidenpapier in Petrischalen (10 cm Durchmesser) platziert, um die Auswirkungen der Verdunstung zu minimieren.
- Die so vorbereiteten Proben wurden auf einem Tisch bei Raumtemperatur für 10 min, 100 min und 24 h bebrütet.

#### 5.2.2. Virus-Titration durch den *Plaque-Größen-Assay*.

- Unmittelbar nach der Inkubation wurde das virale Lysat vorsichtig von den Farbproben abgenommen und titriert.
- Die Titrationsen wurden in Monolayer-Kulturen von MDBK-Zellen in 12-Well-Platten durchgeführt.
- Serielle Verdünnungen wurden in RPMI-Medium mit 8 % FBS hergestellt (100 µl des nach der Inkubation gesammelten viralen Lysats wurden auf 900 µl Medium übertragen).
- Nach Entnahme des Mediums über den Zellen wurden 500 µl des viralen Lysats in entsprechender Verdünnung auf die Zellen aufgetragen und 1 Stunde lang inkubiert ( $37^{\circ}\text{C}$  /  $5\% \text{CO}_2$ ).
- Nach 1 h Inkubation wurde das virale Lysat von oberhalb der Zellen geerntet. Anschließend wurden 1,5 ml einer 1%igen Methylcelluloselösung in Kulturmedium auf die Zellkultur aufgetragen und 6 Tage lang bebrütet ( $37^{\circ}\text{C}$  /  $5\% \text{CO}_2$ ), um die viralen Lysate sichtbar zu machen.



## 6. Ergebnisse.

**Tabelle 1**

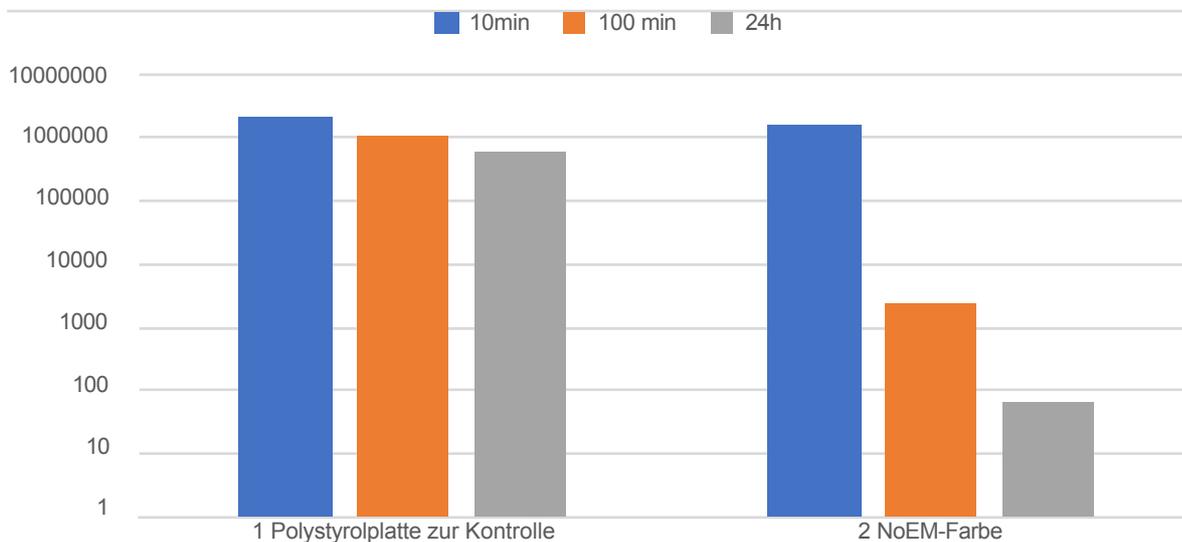
Anzahl der nach der Inkubation mit dem Testmaterial im Lysat verbliebenen aktiven Viruspartikel (PFU/ml). Durchschnitt von zwei unabhängigen biologischen Replikaten.

Muster	10 min	100 min	24 h
Kontrolle	$2 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$6 \times 10^5$
NoEM-Farbe	$1,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^3$	$7 \times 10$

**Tabelle-2**

Balkendiagramm - logarithmische Skala.

Anzahl der nach der Inkubation mit dem Testmaterial im Lysat verbliebenen aktiven Viruspartikel. Durchschnitt von zwei unabhängigen biologischen Replikaten.



## 7. Schlussfolgerungen:

Die Fähigkeit des Testprodukts, das Testvirus (BHV-1) zu inaktivieren, wird durch die Abnahme seines infektiösen Titers bei Kontakt mit dem Testmaterial bestimmt. Das Kriterium für die viruzide Aktivität eines Prüfprodukts gegen ein bestimmtes Virus ist eine Abnahme des infektiösen Virustiters nach 24 Stunden Inkubation um mindestens



mindestens 2 log. (Differenz auf einer logarithmischen Skala zwischen dem infektiösen Titer des Virus in der Kontrollprobe und dem infektiösen Titer des Virus nach Inkubation mit dem Testmaterial).

NoEM-Tinte bewirkt bereits nach 100 Minuten Inkubation mit dem viralen Lysat eine Verringerung des infektiösen Titers um mehr als 2 log im Vergleich zur Kontrolle. Nach 24 Stunden Inkubation beträgt der Rückgang des infektiösen Virustiters 4 log im Vergleich zur Kontrolle. **Die Studie zeigte das signifikante viruzide Potenzial der NoEM-Farbe mit einer Empfehlung zur Zertifizierung.**

Geschäftsführer von ProChimia Surfaces Sp. z  
o.o. Piotr Barski