

## Jelentés

### az Immunetec Antimikrobiális Textilimpregnáló Spray és Antimikrobiális Felületbevonó Fertőtlenítő Spray nevű készítmények virucid hatásával kapcsolatos vizsgálatokról

Az Immunetec Proof Kft. (5008 Szolnok, Krúdy Gyula u. 112., adószáma: 23799976-2-16) (továbbiakban: Megbízó) megbízta a Vet-Diagnostics Kft-t (5000 Szolnok, Csokonai út 23. I/5., adószáma: 11573926-1-16) (továbbiakban: Megbízott), hogy vizsgálja meg az „Antimikrobiális Textilimpregnáló Spray” és az „Antimikrobiális Felületbevonó Fertőtlenítő Spray” nevű készítmények vírusellenes (virucid) hatását. A készítmények permet (spray) formájában forgalmazott impregnálószerke, amelyeket elsődlegesen fertőtlenítésre ajánlanak, a jelenlegi járványhelyzetre való tekintettel különösen a koronavírus-fertőzés elleni védekezésben.

A koronavírusok a Baltimore-féle osztályozás alapján a vírusok IV. csoportjába tartoznak, genomjuk pozitív (vagyis mRNS-ként közvetlenül használható) egyszálú RNS (+ssRNA), lipidburokkal rendelkeznek, kapszidjuk helikális. A különböző fertőtlenítőszerke (detergenske, alkilálószerke, oxidálószerke stb.) meglehetősen érzékenyek, az egyes fajokat megbetegítő koronavírusok környezeti ellenálló képessége között jelentős eltérést nem találtak. Jelenleg több száz különböző koronavírus fajt ismerünk, ezek számos hulló-, madár- és emlősfajt képesek megfertőzni.

A Megbízott a modellkísérleteket az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékének virológiai laboratóriumában végezte, amely az MSZ EN ISO 9001:2015 szabványokban szereplő előírásoknak megfelelően dolgozik. A vizsgálatokban sertés-koronavírus (transzmissibilis gastroenteritis vírus, TGEV) használt a munkavédelmi és közegészségügyi kockázatok csökkentése érdekében. A TGEV jól szaporítható *in vitro* sejttenyészetben, a jelen kísérletekben az ST/E62 kódjelű sejttenyészetet használtunk.

A kísérleti tervet az alábbiak szerint állítottuk össze. (Összefoglalva az 1. táblázat szemlélteti.)

#### Előkészítés:

Hat, kereskedelmi forgalomban beszerezhető steril sebészeti maszkot steril környezetben különféleképpen kezeltünk az alábbiakban leírtak szerint.

1. maszk: A 0. napon 9 órakor  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml standard koncentrációjú TGEV víusból 5 spricc aerosol-t fújtunk a maszk külső felületére 20 cm-es távolságról, utána 6 óra múlva mintát vettünk belőle: egy 3 × 3 cm-es darabot kivágtunk a maszkból a befűjt helyről. Ezután a kivágot mintát 16 órán át áztattunk 5 ml standard sejttenyészet tápfolyadék-oldatba (Dulbecco's MEM) (1. ábra), majd a mosóoldatot titráltuk.

2/A és 2/B maszkok: A 0. napon 9 órakor  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml standard koncentrációjú víusból 5 spricc aerosol-t fújtunk a maszkok külső felületére 20 cm-es távolságról. Szobahőn 3 óra száradás után (12.00-kor) 5–5 spricc Textilimpregnáló Spray-t (2A), illetve Felületbevonó Fertőtlenítő Spray-t (2B) fújtunk a maszkokra (kívülre, ill. belülre), szintén 20 cm-es távolságról. Újabb 3 óra száradás után

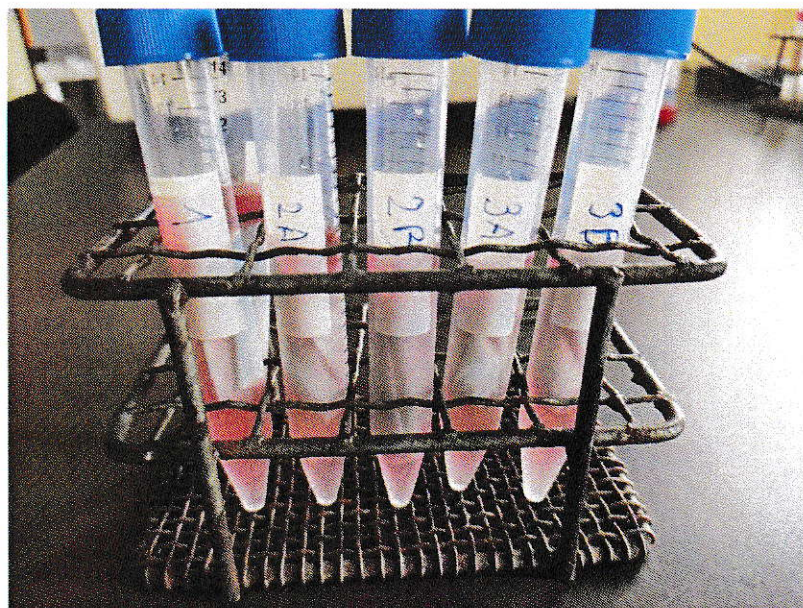
(vagyis a vírusszuszpenzió ráfújása után 6 óra múlva, 15:00-kor) mintát vettünk belőlük: egy-egy 3 × 3 cm-es darabot kivágtunk a maszkokból a befűjt helyről. Ezután a kivágott mintákat 16 órán át áztattuk 5 ml standard sejtenyészet tápfolyadék-oldatban (Dulbecco's MEM), majd a mosóoldatokat titráltuk.

2/A és 2/B maszkok: A kísérlet kezdete előtti napon (-1 nap) 21:00 órakor (-12 óra) 5-5 spricc Textilimpregnáló Spray-t (3A), illetve Felületbevonó Fertőtlenítő Spray-t (3B) fújtunk 20 cm-es távolságról a maszkok mindkét felületére (kívülre, ill. belülre). Szobahőn 12 óra száradás után, másnap 9:00-kor  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml standard koncentrációjú víusból 5 spricc aeroszol-t fújtunk 20 cm-es távolságról a maszkok külső felületére. Hat óra múlva (15:00-kor) mintát vettünk belőlük: egy 3 × 3 cm-es darabot kivágtunk a maszkokból a befűjt helyről. Ezután a kivágott mintákat 16 órán át áztattuk 5 ml standard sejtenyészet tápfolyadék-oldatba (Dulbecco's MEM), majd a mosóoldatokat titráltuk.

4. maszk (kontroll): Sem az Immunetec készítményekkel, sem vírusszuszpenzióval nem kezeltük a maszkot, csak a standard sejtenyészet tápfolyadék-oldatból (Dulbecco's MEM) fújtunk rá 5 spricc aeroszolt. Ezután hat óra múlva mintát vettünk belőle: egy 3×3 cm-es darabot kivágtunk a maszkból a befűjt helyről. Ezután a kivágott mintát 16 órán át áztattuk 5 ml standard sejtenyészet tápfolyadék-oldatba (Dulbecco's MEM), majd a mosóoldatot titráltuk.

1. táblázat: A maszkok különböző kezelése a kísérleti elrendezésben.

	1. maszk	2/A maszk	2/B maszk	3/A maszk	3/B maszk	4. maszk
Kezelés	vírus 0. óra	vírus 0. óra, Textilimpregnáló Spray +3. óra	vírus 0. óra, Felületbevonó Spray +3. óra	Textilimpregnáló Spray -12. óra, vírus 0. óra	Felületbevonó Spray -12. óra, vírus 0. óra	-
Mintavétel	+6. óra	+6. óra	+6. óra	+6. óra	+6. óra	+6. óra



1. ábra: A maszkokból kivágott szövetdarabok áztatása a vírus kinyerése érdekében

## Vírus és sejtenyészet:

Az Immunetec készítményekkel kezelt maszkok tesztelésére koronavírus (sertés koronavírus, TGEV) használunk, amely sertéshere (ST/E62) sejtenyészetben szaporodik.

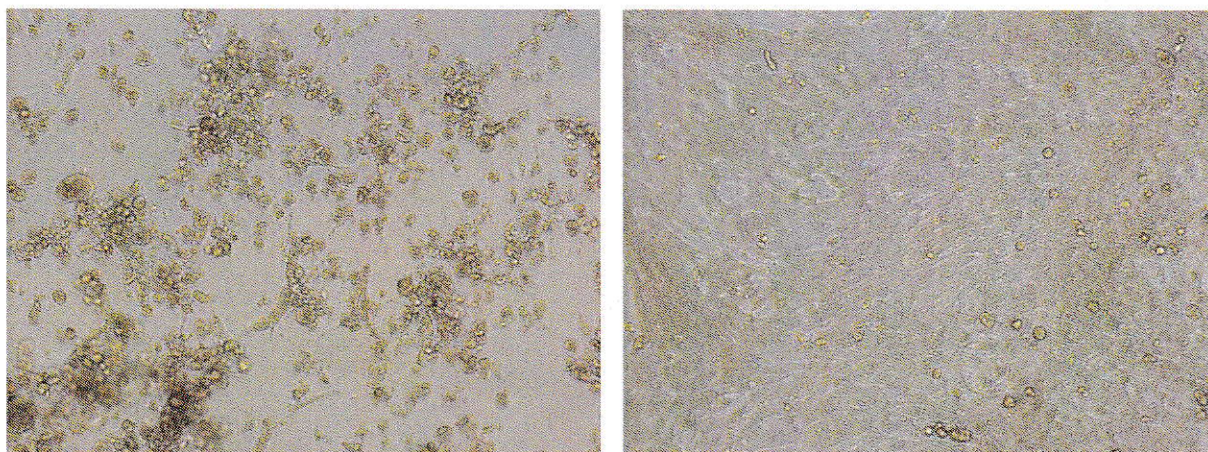
A kísérlet megkezdése előtt a saját vírusgyűjteményünkben (mélyhűtőben,  $-80\text{ °C}$ -on) tárolt vírust elszaporítottuk és felpasszáltuk. A tesztekhez  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml standard koncentrációjú vírustenyészetet állítottunk elő.

## Megjegyzés:

- 1., A kísérleti tervet a Megbízótól kapott információkat, és az Immunetec készítmények dokumentációjában szereplő leírást figyelembe véve, a Megbízóval egyetértésben állítottuk össze.
- 2., A „spricc”, mint mértékegység nem standardizálható. Amennyiben megismételhető (standardizált) vizsgálatokat akarunk végezni, akkor a „spricc” helyett SI-mértékegységben (ml-ben) meghatározott mennyiségű vírust és Immunetec készítményeket kell alkalmazni a maszkokból előzetesen kivágott, standardizált felületű (cm<sup>2</sup>-ben meghatározott) anyagminta kezelésére. Ez azonban nem életszerű körülményeket teremt, hiszen az oldat alkalmazása életszerű körülmények között „spricc” formájában történik, illetve a környezetből a vírusterhelés is aeroszol („spricc”) formájában érkezik. Jelen kísérletben 50 ml-es standard, újratölthető, szórófejes, műanyag ún. „spray” flakonokat használtunk.

## Titrálás:

A maszkból vett minták mosóoldatának titrálása a szakma szabályainak megfelelően (*lege artis*) történt. A mosófolyadékból tízes alapú hígítási sort készítettünk, és minden egyes hígításból párhuzamos sejtenyészeteket oltottunk. A tenyészeteket hat napon át, naponta ellenőriztük a vírusra jellemző sejtkárosító hatás (cytopathic effect, CPE) jelentkezésének észlelése érdekében. A kapott eredményeket rögzítettük, a sejtkárosító hatásról (sejtlekerekedés, sejtfúzió és sejtpusztulás) fényképes dokumentációt készítettünk (2. és 3. ábra), és az eredményeket jegyzőkönyvben rögzítettük.



2. és 3. ábra: A vírus sejtkárosító hatása ST/E62 sejtenyészetben (2. ábra, bal oldal), és a vírussal nem fertőzött kontroll tenyészet (3. ábra, jobb oldal) a titrálás 3. napján (200× nagyítás).

## Eredmények:

A megfigyelés során az alábbi eredményeket kaptuk. (Összefoglalva az 2. táblázat szemlélteti.)

1. maszk (csak vírussal kezelt): az átlagos vírustiter  $10^{4,55}$  TCID<sub>50</sub>/ml.

A kiinduló vírusrészecskékhez ( $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml) képest a titercsökkenés  $1,45 \log_{10}$ .

2/A. maszk (először vírussal, majd 3 órával később Textilimpregnáló Spray-vel kezelt): az átlagos vírustiter  $10^{1,80}$  TCID<sub>50</sub>/ml. A kiinduló vírusrészecskékhez ( $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml) képest a titercsökkenés  $4,2 \log_{10}$ .

2/B. maszk (először vírussal, majd 3 órával később Felületbevonó Spray-vel kezelt): az átlagos vírustiter  $10^{2,05}$  TCID<sub>50</sub>/ml. A kiinduló vírusrészecskékhez ( $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml) képest a titercsökkenés  $3,95 \log_{10}$ .

3/A. maszk (9 órával a vírus előtt Textilimpregnáló Spray-vel kezelt): fertőzőképes vírus nem volt detektálható: a mosóoldat nem okozott sejtkárosító hatást.

3/B. maszk (9 órával a vírus előtt Felületbevonó Spray-vel kezelt): fertőzőképes vírus nem volt detektálható: a mosóoldat nem okozott sejtkárosító hatást.

4. maszk (sem vírussal, sem Immunetec készítményekkel nem kezelt maszk), negatív kontroll: a mosóoldat nem okozott sejtkárosító hatást.

2. táblázat: A maszkok különböző kezelése után tapasztalt titercsökkenés koronavírus esetében.

	1. maszk	2/A. maszk	2/B. maszk	3/A. maszk	3/B. maszk	4. maszk
Kezelés	vírus 0. óra	vírus 0. óra, Textil- impregnáló Spray +3. óra	vírus 0. óra, Felületbevonó Spray +3. óra	Textil- impregnáló Spray -12. óra, vírus 0. óra	Felületbevonó Spray -12. óra, vírus 0. óra	-
Mintavétel	+6. óra	+6. óra	+6. óra	+6. óra	+6. óra	+6. óra
Átlagos titer- csökkenés	<b>1,45 log<sub>10</sub></b>	<b>4,2 log<sub>10</sub></b>	<b>3,95 log<sub>10</sub></b>	<b>6,0 log<sub>10</sub></b>	<b>6,0 log<sub>10</sub></b>	<b>- (neg.)</b>

## Értékelés:

Ahogy az a 2. táblázat adataiból kiderül, az Immunetec-oldattal nem kezelt maszkon alig volt tapasztalható titercsökkenés, ami azt mutatja, hogy a fertőzőképes vírusok száma alig csökkent a hat órás szobahőn történő tárolás (száradás) hatására. Az eredetileg milliliterenként 1 millió ( $10^6$ /ml) fertőzőképes vírusrészecskéből a kezeletlen maszk 6 óra elteltével még több mint 50 ezer fertőzőképes részecskét tartalmazott ( $10^{4,55}$ /ml). Ez nagyjából megfelel a nemzetközileg tapasztalt adatokkal. Ugyanakkor jelentős titercsökkenés volt tapasztalható, a Immunetec-oldattal a vírus feljuttatása előtt 12 órával előkezelt (impregnált) maszkon. Az eredeti 1 millió vírusrészecskéből 6 óra elteltével kb. 100 maradt fertőzőképes (felületbevonó spray:  $10^{2,05}$ /ml, illetve impregnáló spray:  $10^{1,8}$ /ml). Ehhez képest a vírusok fertőzőképessége teljesen megszűnt az előzetesen nem kezelt, de a vírus feljuttatás után három órával Immunetec-oldattal utólag bepermetezett maszkon. Ez a teljes virucid hatás mind a textilimpregnáló, mind a felületbevonó spray estében kimutatható

volt. Összességében megállapítható, hogy az Immunetec a koronavírus feljuttatása előtt (preventív jelleggel alkalmazva) jelentősen csökkenti a vírusok túlélőképességét, a vírus feljuttatása után történt utólagos kezelés pedig abszolút vírusölő (virucid) hatású.

Szolnok, 2021. április 01.



dr. Rusvai Miklós  
egyetemi tanár, kísérletvezető



dr. Kekesi Violetta  
ügyvezető igazgató

VET-BAGRÓCS Kft.  
5000 Szolnok, Csokonai u. 23. 1/5  
Adószám: 11573926-1-16