ROMANIA

AUTORITATEA NATIONALA SANITARA VETERINARA SI PENTRU SIGURANTA ALIMENTELOR
INSTITUTUL DE DIAGNOSTIC ŞI SĂNĂTATE ANIMALĂ
Str. Dr. Staicovici nr. 63, sect. 5, cod 050557, Bucureşti
Tel: 0374322000; 0374322013; Fax: 021 411.33.94; e-mail: office@idah.ro, cod fiscal 4316171

Nr. 4236
Data: 21.09.2009.

Către,

SC PROMEDIVET SRL SOVATA

Domnului Fazakas Zoltan

Urmare adresei dumneavoastră din 01.09.2009 referitor la evaluarea activităţii virucide a produselor PROCID şi PROCID FORTE, vă trimitem anexat rezultatele raportului de evaluare.

DIRECTOR,
Dr. Gheorghe BĂRBOI

SERVICIUL VIROZE MAJORE

RAPORT

EVALUAREA ACTIVITAȚII VIRUCIDE A PRODUSELOR *PROCID* si *PROCID FORTE* - UZ VETERINAR

- conform SR EN 14675:2006 -

- **Obiectiv:** determinarea eficienței virucide a produselor microbicide *PROCID* si *PROCID FORTE* față de *Enterovirusul bovin tip1,* la un timp de contact de 30 minute şi o temperatură de 10°C±1°C (testare în conformitate cu SR EN 14675:2006).

Producător: -

Comercializate de: SC PROMEDIVET SRL, Sovata, str. Lungă, nr. 46/G, jud. Mureş

Caracteristici produse:

- Produse microbicide pentru suprafețe – uz veterinar
- Denumirea produselor:
  - PROCID – soluție; lot nr. 1; valabilitate: 07.06.2011
  - PROCID FORTE – soluție; lot nr. 1; valabilitate: 06.06.2011
- Condiții de păstrare: conform instrucțiunilor producătorului
- Aspectul produselor: ambele produse sunt lichide de culoare roşu deschis, cu miros caracteristic, înțepător şi aspect limpede, omogen
- Compoziție: glutaraldehidă 50% (Ucarcide) – 20 ml, clorură de didecildimetilamoniu 50% (Arquad 2.10 – 50) – 7,5 ml, etoxilat şi butoxilat în alcool (Imbentine PPF) – 5 ml, alcan sulfonat de sodiu (Bioterge) – 4 ml, di-propilenglicol metil – eter (Elton DPM) – 5 ml, colorant roşu carmil – 0,001 g, alcool izopropilic ad 100 ml

Perioada de testare: 01.09.2009 – 18.09.2009

Data livrării produsului: 01.09.2009

Dupa testare, produsul va fi considerat contraprobă şi depozitat conform recomandărilor producătorului în cadrul Serviciului Viroze Majore pe toată perioada valabilității, plus 3 luni de la data expirării.

Testarea a fost realizată conform SR EN 14675:2006 – *Evaluarea virucidă a antisepticelor şi dezinfectantelor chimice utilizate în domeniul veterinar*

Condiții experimentale obligatorii:

- *Enterovirus bovin tip 1* (ECBO) ATCC VR-248
- Temperatura de testare: 10°C±1°C
- Timpul de contact: 30 minute
- Diluția produsului: apa mineralizată (preparată conform SR EN 14675:2006)
- Materie organică:
  - 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină (preparată conform SR EN 14675:2006)
- Temperatura de incubare: 37°C

Materiale şi metode:

Material biologic:

- Virus test: *Enterovirus bovin tip 1* (ECBO), obținut de la ATCC, tulpina ATCC VR-248, lot nr.: 4095616, cu titrul $TCID_{50} = 10^{7,5}$/ml
- Culturi celulare: suspensie de celule MDBK, obținute de la *Friedrich Loeffler Institut*

Reagenți:

- Mediu MEME
- Ser fetal bovin
- Soluție de antibiotice
- Apă mineralizată
- Materie organică:
  - 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină – pentru încărcătură organică ridicată
- Soluție tripsină – Versene cu sol. antibiotice

Tabelul nr.1. Prepararea concentrațiilor produselor PROCID şi PROCID FORTE supuse testarii

Produsul de testat	Domeniul de utilizare recomandat de producător	Perioada de contact conform SR EN 14675:2006	Concentrația recomandata de producător
PROCID, sol. 0,5 % (produs microbicid A)	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	30 minute	50 ml/10 litri apă 250 – 500 ml/m^2-suprafețe neabsorbante 500 – 750 ml/m^2 – suprafețe absorbante
PROCID, sol. 1% (produs microbicid B)	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	30 minute	100 ml/10 litri apă 250 – 500 ml/m^2-suprafețe neabsorbante 500 – 750 ml/m^2 – suprafețe absorbante
PROCID, sol. 2% (produs microbicid C)	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	30 minute	-
PROCID FORTE , sol. 0,5 % (produs microbicid D)	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	30 minute	50 ml/10 litri apă 250 – 500 ml/m^2-suprafețe neabsorbante 500 – 750 ml/m^2 – suprafețe absorbante
PROCID FORTE , sol. 1 % (produs microbicid E)	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	30 minute	100 ml/10 litri apă 250 – 500 ml/m^2-suprafețe neabsorbante 500 – 750 ml/m^2 – suprafețe absorbante
PROCID FORTE, sol. 2% (produs microbicid F)	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	30 minute	-

Tabelul nr. 2. Prepararea amestecurilor de produse microbicide de testat/virus

Produsul de testat	Domeniul de utilizare al produsului microbicid		Materie organică	Diluția (log_{10})	Nr. culturi per diluție
Amestec produs microbicid A + virus	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	Încărcătură organică ridicată	Apă mineralizată 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină	-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9	8
Amestec produs microbicid B + virus	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	Încărcătură organică ridicată	Apă mineralizată 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină	-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9	8
Amestec produs microbicid C + virus	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	Încărcătură organică ridicată	Apă mineralizată 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină	-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9	8
Amestec produs microbicid D + virus	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	Încărcătură organică ridicată	Apă mineralizată 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină	-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9	8
Amestec produs microbicid E + virus	Decontaminarea microbiană a suprafețelor – uz veterinar	Încărcătură organică ridicată	Apă mineralizată 10 g/l extract de drojdie + 10g/l albumină bovină	-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9	8

Toate concentrațiile produselor de testat: PROCID 0,5%, PROCID 1%, PROCID 2% PROCID FORTE 0,5%, PROCID FORTE 1%, PROCID FORTE 2% au demonstrat o reducere a titrului viral mai mare de 4 $\log_{10}$. Infectivitatea nu a fost detectată la niciuna dintre concentrațiile testate ($\leq 2,8 \log_{10}$). Citotoxicitatea la concentrațiile testate a fost $\leq 1,5 \log_{10}$.
Nu s-a observat precipitatrea produsului în timpul testării.

Concluzii:

Produsele PROCID (lot nr.1; valabilitate: 07.06.2011) şi PROCID FORTE lot nr.1; valabilitate: 06.06.2011) de uz veterinar, utilzate pentru decontaminarea microbiană a suprafețelor, testate conform SR EN 14675:2006 au demonstrat inactivarea *Enterovirusului bovin tip 1*, la o perioadă de contact de 30 minute şi o temperatură de $10^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ indicând o activitate virucidă eficientă la toate concentrațiile recomandate de producător.

Şef Serviciu,

Dr. Eugen OLARU

Specialist,

Dr. Graziela NEAGOE

Întocmit: Dr. Graziela NEAGOE
Data: 18.09.2009

ROMANIA

AUTORITATEA NAȚIONALĂ SANITARĂ VETERINARĂ ŞI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR
INSTITUTUL DE DIAGNOSTIC ŞI SĂNĂTATE ANIMALĂ

Str. Dr. Staicovici nr. 63, sector 5, cod. 050557, Bucureşti
Tel: 4101299, 4101390; Fax: 4113394; E-mail: office@idah.ro; Cod fiscal: 4316171

Nr. 7451
Data: 4.10.2007

PROTOCOL

pentru testarea acțiunii virulicide a produselor PROCID şi PROCID FORTE producător SC PROMEDIVET SRL., cu sediul în Sovata, str. Teilor, nr. 6, jud. Mureş, în vederea confirmării acțiunii menționate.

1. Produsul de testat

Denumire:

- PROCID FORTE

- Tip: produs microbicid de decontaminare constituit din două tipuri de substanțe microbicide: aldehida glutarică 50% şi clorură de didecildimetilamoniu 50%. Ingredienți: etoxilat şi butoxilat în alcool (Imbentine PPF) – 5 ml; alcan sulfonat de sodiu (bioterge) – 4 ml; di-propilenglicol metil-eter (Elton DPM) – 5 ml; colorant roşu carmil – 0,001 g; alcool izopropilic – ad 100 ml. Produsul acționează cu aminele primare care sunt prezenți în aminoacizii Lizinei şi Argininei, ce intră în compoziția pereților celulari ale bacteriilor, producând perturbări în metabolismul germenilor ducând în final la moartea acestora. Produsul este mai eficient în medii alcaline şi la temperaturi de 15-25° C. Surfactanții şi detergenții anionici, cationici şi non-ionici potențează eficacitatea produsului prin efectul de mărire a penetrabilității acestuia în organismul microbian.
- Produsul este eficient asupra bacteriilor Gram pozitive şi negative, virusurilor, fungilor şi algelor.
- Produsul se aplică prin pulverizare cât mai fină, în concentrație de 0,5%. Soluția de lucru se prepară folosind 50 ml produs la 10 l apă. Cantitatea de soluție de lucru ce se aplică este de 250 – 500 ml/mp în cazul suprafețelor neabsorbante şi de 500 – 750 l în cazul suprafețelor absorbante. În cazul suprafețelor cu risc crescut de patogenitate – doza poate fi dublată. Timpul de contact este de 30 minute, după care soluția se spală.
- Pentru prepararea şi aplicarea soluțiilor de lucru se va folosi echipament de protecție (ochelari, mască, mănuşi, halat). În caz de stropire accidentală a pielii şi mucoaselor se spală imediat locurile afectate cu apă din abundență.

- PROCID

- Tip: produs microbicid de decontaminare constituit din două tipuri de substanțe microbicide: aldehida glutarică 50% şi clorură de didecildimetilamoniu 50%. Ingredienți: colorant roşu carmil – 0,001g; alcool izopropilic – ad 100 ml.

- Produsul este eficient asupra bacteriilor Gram pozitive şi negative, virusurilor, fungilor şi algelor. Acţionează cu aminele primare care sunt prezenţi în aminoacizii Lizinei şi Argininei, ce intră în compoziţia pereţilor celulari ale bacteriilor, producând perturbări în metabolismul germenilor ducând în final la moartea acestora. Este mai eficient în medii alcaline şi la temperaturi de 15-25° C.
- Produsul se aplică prin pulverizare cât mai fină, în concentraţie de 0,5%. Soluţia de lucru se prepară folosind 50 ml produs la 10 l apă. Cantitatea de soluţie de lucru ce se aplică este de 250 – 500 ml/mp în cazul suprafeţelor neabsorbante şi de 500 – 750 l în cazul suprafeţelor absorbante. În cazul suprafeţelor cu risc crescut de patogenitate – doza poate fi dublată. Timpul de contact este de 30 minute, după care soluţia se spală.

Ambele produse sunt indicate pentru decontaminarea microbiană a suprafeţelor în practica veterinară, a adăposturilor de animale, mijloacelor de transport pentru animale, în industria de preparare a furajelor, suprafeţelor aferente producţiei, transportului, depozitării sau consumului de furaje pentru animale

2. Protocol de lucru

2.1. Materiale necesare:

2.1.1. Sticlărie:
- plăci Petri
- pipete gradate
- flacoane gradate, de 1000 ml
- pipetoare automate
- stative
- tuburi 15cm^3
- seringi
- cilindrii gradaţi

2.1.2. Aparatură:
- balanţă analitică
- termostat 37°C
- frigider
- instrumentar
- hote microbiologice de clasă II*

2.1.3. Alte materiale:
- hârtie indicator pH
- hârtie de filtru
- vată hidrofilă

2.1.4. Reactivi, reagenţi:
- TFS x 10
- SFB
- apă distilată
- sol. eritrocite 1%

2.1.5. Material biologic:
- ouă embrionate SPF
- tulpini virale: virusul influenzei aviare, tulpina H5N1 (RO – AI – 005/05) şi virusul bolii de Newcastle (RO – NDV – 016/06)

2.1.6. Materiale biosecuritate

- echipament de lucru incintă
- halate, de unică folosință
- măşti buco-nazale de unică folosință
- bonete de unică folosință
- mănuşi latex, de unică folosință
- ochelari protecție
- saci autoclavabili
- hîrtie prosop
- containere PP pentru deşeuri
- alcool sanitar
- Vircon S
- Domestos

Tehnica de lucru

Investigațiile privind efectul virulicid al produselor PROCID FORTE şi PROCID se vor derula în condiții de laborator, după următoarea tehnică de lucru:

- Testarea se va efectua pe două tulpini virale A150 şi A160 (pentru A150 se va utiliza tulpina RO – AI – 005/05, iar pentru A 160, tulpina RO – NDV – 016/05).
- Se va folosi soluția microbicidă de 0,5% preparată conform instrucțiunilor producătorului.
- Efectul virulicid se va evalua numai pentru diluțiile de 1/400 şi 1/800, după o perioadă de contact de 30 minute.
- Diluțiile de lucru se obțin: diluția 1/400: 38 ml TFS + 0,25 ml ser fetal bovin + 0,1 ml decontaminant, sol. 0,5%; diluția 1/800: 78 ml TFS + 0,25 ml ser fetal bovin + 0,1 ml decontaminant, sol. 0,5%;

Martori utilizați pentru fiecare tulpină sunt prezentați în tabele 1 şi 2.

*Investigațiile privind efectul virulicid s-au derulat Unitatea de Înaltă Biosecuritate, nivel III, din cadrul IDSA

Tabel 1 – soluții de inoculare AIV pe ouă embrionate pentru produsele PROCID FORTE și PROCID

Martor 1 (viabilitate virala)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	-
Martor 2 (diluție decontaminant 1/400)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 3 (diluție decontaminant 1/800)	78 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 4 (toxicitate ser fetal)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	-
Martor 5 (toxicitate decontaminant)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 6 (viabilitate ouă embrionate SPF)	-	-	-	-
Amestecul virus-decontaminant se menține 30 minute la temperatura camerei, înainte de a fi inoculat pe ouă embrionate.				

Tabel 2 – soluții de inoculare NDV pe ouă embrionate pentru produsele PROCID FORTE și PROCID

Martor 1 (viabilitate virala)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	-
Martor 2 (diluție 1/400)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 3 (diluție 1/400)	78 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 4 (toxicitate ser fetal)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	-
Martor 5 (toxicitate decontaminant)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 6 (viabilitate ouă embrionate SPF)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	-
Amestecul virus-decontaminant se menține 30 minute la temperatura camerei, înainte de a fi inoculat pe ouă embrionate.				

Inocularea se va efectua pe cale alantoidiană, cu câte 0,1 ml din fiecare variantă de martori, câte 10 ouă embrionate. Ouăle embrionate vor fi ținute la incubator 7 zile, lichidul alantoamniotic al fiecărui embrion mort se testează pentru prezența activității hemaglutinante față de soluția de eritrocite 1%. Titrul suspensiilor virale va fi calculat prin metoda Reed și Muench.

3. Responsabilități

Pentru realizarea obiectivelor prevăzute în acest protocol, factorilor implicați le revin următoarele responsabilități:

- testarea acțiunii virulicide a produselor PROCID FORTE și PROCID în condiții de laborator, redactarea protocolului de lucru și a raportului de testare revine IDSA, Serviciului de Viroze Majore.
- dotarea cu materiale necesare efectuării lucrărilor de testare în condiții de laborator sau valoarea acestora specificată în devizul de cheltuieli, revine firmei producătoare SC PROMEDIVET S.R.L. – Sovata, jud. Mureș.

DIRECTOR,

Conf. Univ. Dr. Ștefan NICOLAE

DIRECTOR ADJUNCT TEHNIC,

Dr. Gheorghe BĂRBOI

Șef Serviciu,

Dr. Eugen OLARU

Șef LNR IABN,

Dr. Iuliana ONIȚĂ

SC PROMEDIVET SRL

ADMINISTRATOR,

Dr. Fayakas ZOLTAN

ROMANIA

AUTORITATEA NAȚIONALĂ SANITARĂ VETERINARĂ ŞI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR
INSTITUTUL DE DIAGNOSTIC ŞI SĂNĂTATE ANIMALĂ

Str. Dr. Staicovici nr. 63, sector 5, cod. 050557, Bucureşti
Tel: 4101299, 4101390; Fax: 4113394; E-mail: office@idah.ro; Cod fiscal: 4316171

Nr. 7451.
Data: 4.10.2007

RAPORT

de testare a acțiunii virulicide a produselor PROCID şi PROCID FORTE producător SC PROMEDIVET SRL., cu sediul în Sovata, str. Teilor, nr. 6, jud. Mureş,

1. Produsele testate

Denumire:

- PROCID FORTE

- Tip: produs microbicid de decontaminare constituit din două tipuri de substanțe microbicide: aldehida glutarică 50% şi clorură de didecildimetilamoniu 50%. Ingredienți: etoxilat şi butoxilat în alcool (Imbentine PPF) – 5 ml; alcan sulfonat de sodiu (bioterge) – 4 ml; di-propilenglicol metil-eter (Elton DPM) – 5 ml; colorant roşu carmil – 0,001 g; alcool izopropilic – ad 100 ml. Produsul acționează cu aminele primare care sunt prezenți în aminoacizii Lizinei şi Argininei, ce intră în compoziția pereților celulari ale bacteriilor, producând perturbări în metabolismul germenilor ducând în final la moartea acestora. Produsul este mai eficient în medii alcaline şi la temperaturi de 15-25° C. Surfactanții şi detergenții anionici, cationici şi non-ionici potențează eficacitatea produsului prin efectul de mărire a penetrabilității acestuia în organismul microbian.
- Produsul este eficient asupra bacteriilor Gram pozitive şi negative, virusurilor, fungilor şi algelor.
- Produsul se aplică prin pulverizare cât mai fină, în concentrație de 0,5%. Soluția de lucru se prepară folosind 50 ml produs la 10 l apă. Cantitatea de soluție de lucru ce se aplică este de 250 – 500 ml/mp în cazul suprafețelor neabsorbante şi de 500 – 750 l în cazul suprafețelor absorbante. În cazul suprafețelor cu risc crescut de patogenitate – doza poate fi dublată. Timpul de contact este de 30 minute, după care soluția se spală.
- Pentru prepararea şi aplicarea soluțiilor de lucru se va folosi echipament de protecție (ochelari, mască, mănuşi, halat). În caz de stropire accidentală a pielii şi mucoaselor se spală imediat locurile afectate cu apă din abundență.

- PROCID

- Tip: produs microbicid de decontaminare constituit din două tipuri de substanțe microbicide: aldehida glutarică 50% şi clorură de didecildimetilamoniu 50%. Ingredienți: colorant roşu carmil – 0,001g; alcool izopropilic – ad 100 ml.
- Produsul este eficient asupra bacteriilor Gram pozitive şi negative, virusurilor, fungilor şi algelor. Acționează cu aminele primare care sunt prezenți în aminoacizii Lizinei şi Argininei,

ce intră în compoziția pereților celulari ale bacteriilor, producând perturbări în metabolismul germenilor ducând în final la moartea acestora. Este mai eficient în medii alcaline și la temperaturi de 15-25° C.

- Produsul se aplică prin pulverizare cât mai fină, în concentrație de 0,5%. Soluția de lucru se prepară folosind 50 ml produs la 10 l apă. Cantitatea de soluție de lucru ce se aplică este de 250 – 500 ml/mp în cazul suprafețelor neabsorbante și de 500 – 750 l în cazul suprafețelor absorbante. În cazul suprafețelor cu risc crescut de patogenitate – doza poate fi dublată. Timpul de contact este de 30 minute, după care soluția se spală.

Ambele produse sunt indicate pentru decontaminarea microbiană a suprafețelor în practica veterinară, a adăposturilor de animale, mijloacelor de transport pentru animale, în industria de preparare a furajelor, suprafețelor aferente producției, transportului, depozitării sau consumului de furaje pentru animale

2. Obiectivul testării

Evaluarea efectului virulicid, în condiții de laborator folosind metoda diluțiilor succesive, pentru aprecierea concentrației optime active față de virusurile influenței aviare și bolii de Newcastle.

3. Locul testării

Testarea efectului virulicid în condiții de laborator s-a efectuat în cadrul Unității de Înaltă Biosecuritate, nivel III, din IDSA.

4. Materiale și metode

Pentru realizarea testărilor în condiții de laborator a acțiunii virulicide au fost necesare următoarele materiale:

Sticlărie:
- plăci Petri
- pipete gradate
- flacoane gradate, de 1000 ml
- pipetoare automate
- stative
- tuburi 15cm^3
- seringi
- cilindrii gradați

Aparatură:
- balanță analitică
- termostat 37°C
- frigider
- instrumentar
- hote microbiologice de clasă II*

Alte materiale:
- hârtie indicator pH
- hârtie de filtru
- vată hidrofilă

Reactivi, reagenți:

- TFS x 10
- SFB
- apă distilată
- sol. eritrocite 1%

Material biologic:
- ouă embrionate SPF
- tulpini virale: virusul influenzei aviare, tulpina H5N1 (RO – AI – 005/05) şi virusul bolii de Newcastle (RO – NDV – 016/05)

Materiale biosecuritate:

- echipament de lucru incintă
- halate, de unică folosinţă
- măşti buco-nazale de unică folosinţă
- bonete de unică folosinţă
- mănuşi latex, de unică folosinţă
- ochelari protecţie
- saci autoclavabili
- hîrtie prosop
- containere PP pentru deşeuri
- alcool sanitar
- Vircon S
- Domestos

5. Tehnica de lucru

Efectul virulicid a fost evaluat numai pentru diluţiile de decontaminant 1/400 şi 1/800, pentru fiecare produs după o perioadă de contact a produselor cu suspensiile de virus (virusurile influenţei aviare şi bolii de Newcastle) de 30 minute.

5.1 Obţinerea diluţiilor de lucru

- diluţia 1/400: 38 ml TFS + 0,25 ml ser fetal bovin + 0,1 ml decontaminant;
- diluţia 1/800: 78 ml TFS + 0,25 ml ser fetal bovin + 0,1 ml decontaminant;

5.2 Realizarea contactului decontaminant – virus

În fiecare diluţie s-au adăugat câte 0,1 ml din suspensiile de virus utilizate pentru testare. Amestecurile obţinute au foat menţinute la temperatura camerei timp de 30 minute, după care s-au inoculat pe ouă embrionate SPF (tebelele 1, 2, 3 şi 4).

Tabel 1 – Obținerea diluțiilor și realizarea contactului decontaminant – virus, în cazul produsului PROCID FORTE - soluții de inoculare AIV pe ouă embrionate SPF

Martor 1 (viabilitate virala)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	-
Martor 2 (diluție decontaminant 1/400)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 3 (diluție decontaminant 1/800)	78 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 4 (toxicitate ser fetal)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	-
Martor 5 (toxicitate decontaminant)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 6 (viabilitate ouă embrionate SPF)	-	-	-	-

Tabel 2 – Obținerea diluțiilor și realizarea contactului decontaminant – virus în cazul produsului PROCID FORTE - soluții de inoculare NDV pe ouă embrionate

Martor 1 (viabilitate virala)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml NDV	-
Martor 2 (diluție 1/400)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml NDV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 3 (diluție 1/400)	78 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml NDV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 4 (toxicitate ser fetal)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	-
Martor 5 (toxicitate decontaminant)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 6 (viabilitate ouă embrionate SPF)	-	-	-	-

Tabel 3 – Obținerea diluțiilor și realizarea contactului decontaminant – virus, în cazul produsului PROCID - soluții de inoculare AIV pe ouă embrionate SPF

Martor 1 (viabilitate virala)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	-
Martor 2 (diluție decontaminant 1/400)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 3 (diluție decontaminant 1/800)	78 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml AIV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 4 (toxicitate ser fetal)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	-
Martor 5 (toxicitate decontaminant)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 6 (viabilitate ouă embrionate SPF)	-	-	-	-

Tabel 4 – Obținerea diluțiilor și realizarea contactului decontaminant – virus în cazul produsului PROCID - soluții de inoculare NDV pe ouă embrionate

Martor 1 (viabilitate virala)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml NDV	-
Martor 2 (diluție 1/400)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml NDV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 3 (diluție 1/400)	78 ml TFS	0,25 ml SFB	0,1 ml NDV	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 4 (toxicitate ser fetal)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	-
Martor 5 (toxicitate decontaminant)	38 ml TFS	0,25 ml SFB	-	0,1 ml decontaminant 0,5%
Martor 6 (viabilitate ouă embrionate SPF)	-	-	-	-

Legendă:
M1 – ouă embrionate SPF inoculate numai cu suspensia virală (martor de viabilitate virală);
M2 – ouă embrionate SPF inoculate cu diluția de decontaminant 1/400 (martor de decontaminant 1);
M3 – ouă embrionate SPF inoculate cu diluția de decontaminant 1/800 (martor de decontaminant 2);
M4 – ouă embrionate SPF inoculate cu ser fetal bovin (martor toxicitate ser normal);
M5 – ouă embrionate SPF inoculate cu decontaminant (martor toxicitate decontaminant);
M6 – ouă embrionate SPF neinoculate (martor viabilitate ouă embrionate SPF);

5.3 Inocularea pe ouă embrionate SPF

Inocularea s-a efectuat pe cale alantoidiană, cu câte 0,1 ml din fiecare variantă de diluție (1/400 și 1/800) și din fiecare variantă de martori, câte 10 ouă embrionate SPF.

6. Rezultate și discuții

6.1 Testarea activității produselor PROCID FORTE și PROCID față de virusul influenței aviare

Pentru determinarea efectului virulicid al produselor PROCID și PROCID FORTE față de virusul influenței aviare, s-a utilizat izolatul viral RO – AI – 005/05, din colecția IDSA. Inițial s-a determinat titrul viral prin inocularea a câte 5 ouă embrionate SPF, de la 10^{-1} la 10^{-9} (tabelul 5)

Tabelul 5 - Titrare virus AI - inoculare 5 ouă/diluție
- embrioni morți/dată

	Ziua 1		Ziua 2		Ziua 3		Ziua 4		Ziua 5		Ziua 6		Ziua 7	
	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH
10^{-1}			**5**	Da										
10^{-2}			**5**	Da										
10^{-3}			**5**	Da										
10^{-4}	-	-	**5**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	**5**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-6}	-	-	**5**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-7}	-	-	-	-	**3**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-8}	-	-	-	-	**1**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-9}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Din analiza rezultatelor se constată:
- embrionii din ouăle inoculate cu virus (martor 1 de viabilitate virală) au murit după 48 de ore (10/10), iar lichidul alantoamniotic a prezentat activitate hemaglutinantă;
- embrionii din ouăle inoculate cu virus diluțiile 10^{-1} – 10^{-6} au murit după 48 de ore (5/5), iar cei din diluțiile 10^{-7} – 10^{-8} au murit după 72 de ore (3/5 pentru diluția 10^{-7} și 1/5 pentru diluția 10^{-8}); lichidul alantoamniotic a prezentat activitate hemaglutinantă;
- titrul suspensiilor virale calculat prin metoda Reed și Muench a fost de $10^{8,68}$ DIE_{50}/ml.

Rezultatele efectului virulicid ale decontaminantului PROCID FORTE față de tulpina de virus al influenței aviare utilizată la testare sunt redate în tabelul 6.

Tabelul 6. Rezultatele obținute privind avtivitatea produsului PROCID FORTE asupra virusului influenței aviare

	03.09.07		04.09.07		05.09.07		06.09.07		07.09.07		08.09.07		09.09.07	
	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH
Martor 1 (Viabilit. virus)	-	-	**10**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 2 (Diluție decont. 1/400)	1	Nu	-	-	-	-	-	-	1	Nu	-	-	-	-
Martor 3 (Diluție decont. 1/800)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Martor 4 (Toxicit. ser fetal bovin)	-	-	-	-	-	-	1	Nu	-	-	-	-	-	-
Martor 5 (Toxicit. decont.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 6 (viabilit. ouă embr.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Din analiza rezultatelor se constată:

- din embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/400 (M 2 martor de decontaminant 1) au murit doi, după 24 şi respectiv 120 de ore (2/10), iar lichidul alantoamniotic nu a prezentat activitate hemaglutinantă;
- embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/800 (M 3 martor de decontaminant 2) au rămas vii până la sfârşitul testării;
- din embrionii din ouăle inoculate cu ser fetal bovin (M 4 martor de toxicitate se fetal) a murit un singur embrion, după 96 (1/10)
- embrionii din ouăle inoculate cu decontaminant (M 5 martor de toxicitate decontaminant) au rămas vii până la sfârşitul testării;
- embrionii rămaşi vii la sfârşitul perioadei de testare (sacrificați la termen) nu au prezentat activitate hemaglutinantă;
- lipsa activității hemaglutinante demonstrează că produsul are activitate virulicidă

Rezultatele efectului virulicid ale decontaminantului PROCID față de tulpina de virus a influenței aviare utilizată la testare sunt redate în tabelul 7.

Tabelul 7. Rezultatele obținute privind avtivitatea produsului PROCID asupra virusului influenței aviare

	03.09.07		04.09.07		05.09.07		06.09.07		07.09.07		08.09.07		09.09.07	
	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH
Martor 1 (Viabilit. virus)	-	-	10	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 2 (Diluție decont. 1/400)	2	Nu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 3 (Diluție decont. 1/800)	-	-	-	-	1	Nu	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 4 (Toxicit. ser fetal bovin)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 5 (Toxicit. decont.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 6 (viabilit. ouă embr.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Din analiza rezultatelor se constată:

- embrionii din ouăle inoculate cu virus (M 1 de viabilitate virală) au murit după 48 de ore (10/10), iar lichidul alantoamniotic a prezentat activitate hemaglutinantă;
- din embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/400 (M 2 martor de decontaminant 1) au murit doi, după 24 (2/10), iar lichidul alantoamniotic nu a prezentat activitate hemaglutinantă;
- din embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/800 (M 3 martor de decontaminant 2) a murit un embrion, după 72 de ore (1/10)), iar lichidul alantoamniotic nu a prezentat activitate hemaglutinantă;

- embrionii din ouăle inoculate cu ser fetal bovin (M 4 martor de toxicitate se fetal) au rămas vii până la sfârşitul testării;
- embrionii din ouăle inoculate cu decontaminant (M 5 martor de toxicitate decontaminant) au rămas vii până la sfârşitul testării;
- embrionii rămaşi vii la sfârşitul perioadei de testare (sacrificaţi la termen) nu au prezentat activitate hemaglutinantă;
- lipsa activităţii hemaglutinante demonstrează că produsul are activitate virulicidă

6.2 Testarea activităţii produselor PROCID FORTE şi PROCID faţă de virusul bolii de Newcastle

Pentru determinarea efectului virulicid al produselor PROCID şi PROCID FORTE faţă de virusul bolii de Newcastle s-a utilizat izolatul viral RO – NDV 016/05 din colecţia IDSA.

Iniţial s-a determinat titrul viral prin inocularea a câte 5 ouă embrionate SPF, de la 10^{-1} la 10^{-9} (tabelul 8)

Tabelul 8 - Titrare virus NDV - inoculare 5 ouă/diluţie
- embrioni morţi/dată

	Ziua 1		Ziua 2		Ziua 3		Ziua 4		Ziua 5		Ziua 6		Ziua 7	
	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH
10^{-1}			5	Da										
10^{-2}			5	Da										
10^{-3}			5	Da										
10^{-4}	-	-	5	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-5}	-	-	5	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-6}	-	-	4	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-7}	-	-	-	-	2	Da	-	-	-	-	-	-	-	-
10^{-8}	-	-	-	-	1	Da	-	-	1	Da	-	-	-	-
10^{-9}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Din analiza rezultatelor se constată:

- embrionii din ouăle inoculate cu virus diluţiile 10^{-1} – 10^{-5} au murit după 48 de ore (5/5), iar cei din diluţiile 10^{-6} – 10^{-8} au murit după 72 de ore (2/5 pentru diluţia 10^{-6} şi 1/5 pentru diluţia 10^{-8})şi respectiv 120 ore (1/5 pentru diluţia 10^{-8}); lichidul alantoamniotic a prezentat activitate hemaglutinantă;
- titrul suspensiilor virale calculat prin metoda Reed şi Muench a fost de $10^{8,64}$ DIE $_{50}$/ml.

Rezultatele efectului virulicid ale decontaminantului PROCID FORTE faţă de tulpina de virus a bolii de Newcastle utilizată la testare sunt redate în tabelul 9.

Tabelul 9. Rezultatele obţinute privind avtivitatea produsului PROCID FORTE asupra virusului bolii de Newcastle

	03.09.07		04.09.07		05.09.07		06.09.07		07.09.07		08.09.07		09.09.07	
	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH
Martor 1 (Viabilit. virus)	-	-	10	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 2 (Diluţie decont. 1/400)	-	-	-	-	1	Nu	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 3 (Diluţie decont. 1/800)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 4	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-

(Toxicit. ser fetal bovin)														
Martor 5 (Toxicit. decont.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 6 (viabilit. ouă embr.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Din analiza rezultatelor se constată:

- embrionii din ouăle inoculate cu virus (M 1 de viabilitate virală) au murit după 48 de ore (10/10), iar lichidul alantoamniotic a prezentat activitate hemaglutinantă;
- din embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/400 (M 2 martor de decontaminant 1) a murit un embrion, după 72 de ore (1/10), iar lichidul alantoamniotic nu a prezentat activitate hemaglutinantă;
- embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/800 (M 3 martor de decontaminant 2) au rămas vii până la sfârșitul testării;
- embrionii din ouăle inoculate cu ser fetal bovin (M 4 martor de toxicitate se fetal) au rămas vii până la sfârșitul testării;
- embrionii din ouăle inoculate cu decontaminant (M 5 martor de toxicitate decontaminant) au rămas vii până la sfârșitul testării;
- embrionii rămași vii la sfârșitul perioadei de testare (sacrificați la termen) nu au prezentat activitate hemaglutinantă;
- lipsa activității hemaglutinante demonstrează că produsul are activitate virulicidă

Rezultatele efectului virulicid ale decontaminantului PROCID față de tulpina de virus a bolii de Newcastle utilizată la testare sunt redate în tabelul 10.

Tabelul 10. Rezultatele obținute privind avtivitatea produsului PROCID asupra virusului bolii de Newcastle

	03.09.07		04.09.07		05.09.07		06.09.07		07.09.07		08.09.07		09.09.07	
	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH	Nr. ouă	AH
Martor 1 (Viabilit. virus)	-	-	**10**	Da	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 2 (Diluție decont. 1/400)	1	Nu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 3 (Diluție decont. 1/800)	1	Nu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 4 (Toxicit. ser fetal bovin)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 5 (Toxicit. decont.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martor 6 (viabilit. ouă embr.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Din analiza rezultatelor se constată:

- embrionii din ouăle inoculate cu virus (M 1 de viabilitate virală) au murit după 48 de ore (10/10), iar lichidul alantoamniotic a prezentat activitate hemaglutinantă;
- din embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/400 (M 2 martor de decontaminant 1) a murit un embrion, după 24 (1/10), iar lichidul alantoamniotic nu a prezentat activitate hemaglutinantă;

- din embrionii din ouăle inoculate cu diluție de virus 1/800 (M 3 martor de decontaminant 2) a murit un embrion, după 24 de ore (1/10)), iar lichidul alantoamniotic nu a prezentat activitate hemaglutinantă;
- embrionii din ouăle inoculate cu ser fetal bovin (M 4 martor de toxicitate se fetal) au rămas vii până la sfârşitul testării;
- embrionii din ouăle inoculate cu decontaminant (M 5 martor de toxicitate decontaminant) au rămas vii până la sfârşitul testării;
- embrionii rămaşi vii la sfârşitul perioadei de testare (sacrificați la termen) nu au prezentat activitate hemaglutinantă;
- lipsa activității hemaglutinante demonstrează că produsul are activitate virulicidă

7. Concluzii

În urma investigațiilor privind efectul virulicid în condiții de laborator al produselor PROCID FORTE şi PROCID, comercializate de firma SC PROMEDIVET SRL, cu sediul în Sovata, str. Teilor, nr. 6, jud. Mureş, față de virusul influenței aviare şi virusul bolii de Newcastle rezultă următoarele concluzii:

1. Produsele PROCID FORTE şi PROCID au o acțiune virulicidă eficientă față de tulpinile virale utilizate în testare.
2. După o perioadă de contact de 30 minute, produsele PROCID FORTE şi PROCID au efect virulicid față de tulpinile virale în diluție de 1/400 şi 1/800.

7459 / 4.10.2007

DIRECTOR,

Conf. Univ. Dr. Ştefan NICOLAE

DIRECTOR ADJUNCT TEHNIC,

Dr. Gheorghe BĂRBOI

Şef Serviciu,

Dr. Eugen OLARU

Şef LNR IABN,

Dr. Iuliana ONIȚĂ

Specialist,

Dr. Graziela NEAGOE

SC PROMEDIVET SRL

ADMINISTRATOR,

Dr. Fayakas ZOLTAN