

Überprüfung der viruziden Eigenschaften von biozid ausgerüsteten Testflächen

Testung von viruzid beschichteten Keimträgern im praxisnahen viruziden Carriertest in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie die ISO 21702:2019 gegenüber dem *Bovinen Coronavirus (BoCV; Stamm: S379 Riems)*- Screeningtest S1 vom 17.06.2020

Kurzbericht zum Screeningtest S1

von

PD Dr. Olaf Thraenhart und Dr. Christian Jursch

Untersuchung: im Juni 2020
Auftraggeber: B+H Solutions
Schnaiter Straße 11-13
D-73630 Remshalden

Auftraggeber: B+H Solutions
Schnaiter Straße 11-13
D-73630 Remshalden

Produkte:

- Testflächen: Glaskeimträger; auf die Maße 1,6 cm x 6 cm zugeschnitten
- 1. Produkt: Testflächen ohne Wirksubstanz (Nullproben)
- 2. Produkt: einseitig beschichtete Testflächen; beschichtet mit Wirksubstanz (Wirkproben)

Testparameter:

- Einwirkbedingungen: T = 25 °C und 90 % r.LF (
- Proteinbelastung: ohne (weitere) Belastung; das Virusmaterial (Zellkulturüberstand) wurde unverändert aufgetragen
- Volumen/Flächenverhältnis: 25 µL/cm²
- Virussuspension (150 µL) aufgetragen auf eine Fläche von 1,2 x 5 cm und anschließend abgedeckt mit Folie (LDPE, 110 µm) zugeschnitten auf ca. 1,2 x 5 cm (6 cm²)
- Inkubation für 1 h, 8 h und 24 h im Klimaschrank KBF 115 (Fa Binder)

Testsystem:

- Bovines Coronavirus (BoCV); Stamm: S379 Riems (Herkunft: Friedrich Löffler-Institut (Insel Riems) der Universität Greifswald, Greifswald)
- HRT-18 Zellen (human rectal carcinoma cells) (Herkunft: Inst. f. Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der Universität Giessen, Giessen)

Testverfahren:

- Die Versuche wurden in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie die ISO 21702:2019 im quantitativen viruziden Carriertest bei T = 25 °C und 90 % r.LF (im Klimaschrank) durchgeführt.
- Die Tests wurden ohne zusätzliche Belastung durchgeführt.

Tab. 1: Getestete Produktmuster (getestet wie erhalten)

| Lfd. Nr. | Produkt (e) | Lagerung ¹ |
|----------|--|-----------------------|
| #1 | Keimträger / <i>unbeschichtet</i> (ohne Wirkkomponente) | bei RT |
| #2 | Keimträger / beschichtet mit <i>AgSept[®] Protect</i> , auf Oberfläche gesprüht und getrocknet (mit Wirkkomponente) | bei RT |

¹ = zugangsbeschränkt auf das Personal von Eurovir

Ergebnisse:

Beobachtungen:

- Die Testflächen der Prüfmuster waren unterschiedlich gut benetzbar. Durch das Auflegen der PE-Folie konnte jedoch ein mehr oder weniger gleichmäßiger Flüssigkeitsfilm erzeugt werden.
- Durch die Abdeckung des Flüssigkeitsfilms mit der Folie blieb das Virusmaterial über die gesamte Standzeit als Film stabil und trocknete innerhalb des Beobachtungszeitraum nicht aus.

Tab. 2.1: Viruskontrolle (Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration)

| Probe Nr. | VK-1a | VK-1b | VK-2a | VK-2b | VK-3a | VK-3b |
|--|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|-----------------------------|-------|
| Ansatz | 1 Std. | | 8 Std. | | 24 Std. | |
| Titer/Testvol. (lg ID ₅₀) | 5,1 | 4,95 | 4,8 | 4,95 | 3,9 | 3,9 |
| mittl. Virustiter ± K (95%)¹ | 5,03 ± 0,29 / 100 µL | | 4,88 ± 0,27 / 100 µL | | 3,90 ± 0,38 / 100 µL | |

¹ = Berechnung des Titerwertes sowie dessen 95 % Konfidenzintervalls nach der DVV/RKI-Leitlinie

Tab. 2.2: Virusinaktivierung (Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration)

| Probe Nr. | In-7a | In-7b | In-8a | In-8b | In-9a | In-9b |
|---|----------------------|-------|----------------------|-------|----------------------|-------|
| Ansatz | 1 Std. | | 8 Std. | | 24 Std. | |
| Titer/Testvol. (lg ID ₅₀) | ≤ 0,3 | 1,05 | ≤ 0,3 | ≤ 0,3 | ≤ 0,3 | ≤ 0,3 |
| mittl. Virustiter ± K (95%) ¹ | ≤ 0,68 ± 0,32 | | ≤ 0,3 | | ≤ 0,3 | |
| Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%]) | ≥ 4,35 ± 0,43 | | ≥ 4,58 ± 0,27 | | ≥ 3,60 ± 0,38 | |

¹ = Berechnung des Titerwertes sowie dessen 95 % Konfidenzintervalls nach der DVV/RKI-Leitlinie

² = Virusreduktion: lg ID₅₀ der Viruskontrolle minus lg ID₅₀ der Probe; nach der DVV/RKI-Leitlinie

Ergebnisse: (cf. Tab. 2)

- Durch die Verweildauer des Virusmaterials auf den Testflächen kann das Testvirus innerhalb des Beobachtungszeitraums (hier: bis 24 h) auch bereits ohne eine (zusätzliche) Einwirkung in einem gewissen Maße reduziert werden. Das ist bekannt und wurde entsprechend erwartet. Es bleibt anzumerken, dass das Ausmaß der Reduktion für die aktuelle Testung (1,1 Log) als vergleichsweise gering einzustufen ist.
- Zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft wurde zu jeder Einwirkzeit ein entsprechender Virusausgangswert bestimmt (Viruskontrolle[n]). Der Virusausgangswert zum jeweiligen Zeitpunkt stellt somit den Bezugspunkt zur Ermittlung der produktassoziierten Virusinaktivierung (Reduktion) dar (cf. Tab. 2.1).
- Nach Ablauf der Expositionszeit und unter den o.a. Testbedingungen wurden folgende produktassoziierte Reduktionsfaktoren bestimmt:

AgSept[®] Protect, auf Oberfläche gesprüht und getrocknet:

nach t = 1h: RF ≥ 4,35 ± 0,43, nach t = 8h: RF ≥ 4,58 ± 0,27 und nach t = 24 Std.: RF ≥ 3,60 ± 0,38

Fazit:

- Der auf die Testflächen aufgebrauchte Flüssigkeitsfilm war über den Beobachtungszeitraum stabil d.h. auch am Ende der längsten Einwirkzeit war das Virusmaterial nicht eingetrocknet. Damit war ein fortwährender Kontakt zwischen dem Virusmaterial und der Keimträger-Oberfläche über den Beobachtungszeitraum sichergestellt. Eine Verteilung des Virusmaterials (z.B. per Diffusion) innerhalb der flüssigen Phase war somit möglich.
- Eine etwaig nachweisbare Virusreduktion kann somit ursächlich der Beschichtung zugeschrieben werden.
- *AgSept® Protect, auf Oberfläche gesprüht und getrocknet*: Bereits nach einer Kontaktzeit von 1h war kaum noch Restvirus nachweisbar und die Virusreduktion betrug $RF \geq 4,35$. Nach 8 Std. war kein Restvirus mehr nachweisbar und die Virusreduktion betrug mehr als 4,5 Log.

Anmerkung:

- Die beobachtete virusinaktivierende Wirkung der Beschichtung wurde mit dem *Bovinen Coronavirus* erhoben. Dieses Testvirus gehört zu den behüllten Viren, die im Allgemeinen als leicht inaktivierbar gelten. Das bedeutet, dass die beobachtete Viruswirksamkeit nicht auf andere Viren übertragen werden kann. Dieses gilt möglicherweise auch für andere behüllte Viren.
- Die oben beschriebenen Daten wurden in einem sog. Screeningtest erhoben. Dieser Test ist ein Basistest, durchgeführt in Anlehnung an das zugrundeliegende Regelwerk und unter Weglassung von Validitätskontrollen. Dieser Test entspricht somit nicht einer umfänglichen Produktvalidierung gemäß der ISO 21702.

Luckenwalde, den 05.11.2020



Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)