Dr. Christian Jursch
Eurovir Hygiene-Labor GmbH
Im Biotechnologiepark 9
D-14943 Luckenwalde

Eurovir® Hygiene-Labor
Antivirale Validierung & Rabies

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 21702:201 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:	Malteser Rettungsdienst gGmbH Bruderwöhrdstr. 27 D-93055 Regensburg

Dr. Christian Jursch
Eurovir Hygiene-Labor GmbH
Im Biotechnologiepark 9
D-14943 Luckenwalde

Auftraggeber: Malteser Rettungsdienst gGmbH
Bruderwöhrdstr. 27
D-93055 Regensburg

Produkte:

- Testflächen: Glaskeimträger; auf die Maße 1,6 cm x 6 cm zugeschnitten
- 1. Produkt: Testflächen ohne Wirksubstanz (Nullproben)
- 2. - 4. Produkt: einseitig beschichte 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 / *unbeschichtet* (ohne Wirkkomponente)	bei RT
#2	Keimträger / beschichtet mit Wirkkomponente *sanpure*	bei RT
#3	Keimträger / beschichtet mit Wirkkomponente [redacted]	bei RT
#4	Keimträger / beschichtet mit Wirkkomponente *Agpureviruzid*	bei RT

[1] = *zugangsbeschränkt auf das Personal von Eurovir*

Dr. Christian Jursch
Eurovir Hygiene-Labor GmbH
Im Biotechnologiepark 9
D-14943 Luckenwalde

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-1a	In-1b	In-2a	In-2b	In-3a	In-3b
Ansatz	*sanpure* / 1 Std.		*sanpure* / 8 Std.		*sanpure* / 24 Std.	
Titer/Testvol. ($lg\ ID_{50}$)	3,6	3,75	≤ 0,3	0,45	≤ 0,3	≤ 0,3
mittl. Virustiter ± K (95%) [1]	3,68 ± 0,29		≤ 0,38 ± 0,15		≤ 0,3	
Reduktion [2] ($lg\ ID_{50}$ ± K [95%])	**1,35 ± 0,42**		**≥ 4,50 ± 0,31**		**≥ 3,60 ± 0,38**	

Probe Nr.	In-4a	In-4b	In-5a	In-5b	In-6a	In-6b
Produkt(e)	[redacted] / 1 Std.		[redacted] / 8 Std.		[redacted] / 24 Std.	
Titer/Testvol. ($lg\ ID_{50}$)	4,65	5,1	5,4	5,4	4,35	4,5
mittl. Virustiter ± K (95%) [1]	4,88 ± 0,34		5,40 ± 0,37		4,43 ± 0,26	
Reduktion [2] ($lg\ ID_{50}$ ± K [95%])	**0,15 ± 0,45**		**-0,52 ± 0,46**		**-0,53 ± 0,46**	

Probe Nr.	In-7a	In-7b	In-8a	In-8b	In-9a	In-9b
Produkt(e)	*Agpureviruzid* / 1 Std.		*Agpureviruzid* / 8 Std.		*Agpureviruzid* / 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	
Reduktion [2] ($lg\ ID_{50}$ ± 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 ID_{50} der Viruskontrolle minus lg ID_{50} der Probe; nach der DVV/RKI-Leitlinie

Dr. Christian Jursch
Eurovir Hygiene-Labor GmbH
Im Biotechnologiepark 9
D-14943 Luckenwalde

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:

  sanpure - 1h: RF = 1,35 ± 0,42, 8h: RF ≥ 4,50 ± 0,42 und 24 Std.: RF ≥ 3,60 ± 0,38

  [redacted] - 1h: RF = 0,15 ± 0,45, 8h: RF = -0,52 ± 0,46 und 24 Std.: RF = -0,53 ± 0,46

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

Fazit:

- Der auf die Testflächen aufgebrachte 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.
- ***Beschichtung sanpure***: Nach einer Kontaktzeit von 1h war Restvirus nachweisbar und die Virusreduktion betrug RF = 1,35. Nach 8 Std. bzw. 24 Std. war (praktisch kein Restvirus mehr nachweisbar und die Virusreduktion betrug mehr als 4,5 Log.
- ***Beschichtung*** [redacted]: Mit dieser Beschichtung war keine Virusreduktion nachweisbar. Weder nach 8 Std. noch nach 24 Std.
- ***Beschichtung Agpureviruzid***: Bereits nach einer Kontaktzeit von 1h war kaum noch Restvirus nachweisbar und die Virusreduktion betrug RF ≥ 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 27.06.2020

Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)