

Überprüfung der viruziden Eigenschaften von biozid beschichteten Keimträgern

Testung von viruzid beschichteten Keimträgern im praxisnahen viruziden Carriertest in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie die ISO 21702:2019 gegenüber *Adenovirus, Typ 5 (Stamm: Adenoid 75)*- Screeningtest S4 vom 16./17.09.2020

Kurzbericht zum Screeningtest S4

von

PD Dr. Olaf Thraenhart und Dr. Christian Jursch

Untersuchung: September - Oktober 2020
Auftraggeber: Munditia Technologies GmbH
Heegstrauchweg 54
D-35394 Gießen

Auftraggeber: Munditia Technologies GmbH
Heegstrauchweg 54
D-35394 Gießen

Produkte:

- Testflächen: beschichtete Glaskeimträger; mit den Maßen 1,6 cm x 6 cm
- 1. Produkt: Keimträger ohne Wirksubstanz (Nullproben)
- 2. Produkt: einseitig beschichtete Keimträger; 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 Std., 8 Std. und 24 Std. im Klimaschrank KBF 115 (Fa Binder)

Testsystem:

- Adenovirus, Typ 5 (Ad5); Stamm: Adenoid 75 (Herkunft: Robert Koch-Institut, Berlin)
- 293 ([ACC 305] human embryonic kidney cells (transformed with Ad5) (Herkunft: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Braunschweig)

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 Wirkkomponente Mundex L	bei RT

¹ = zugangsbeschränkt auf das Personal von Eurovir

Ergebnisse:

Beobachtungen:

- Die Testflächen der Prüfmuster weitestgehend benetzbar. Ohne das Auflegen einer PE-Folie war der Flüssigkeitsfilm jedoch nicht homogen. Erst mit Auflegen der Folie war das Virusmaterial mehr oder weniger gleichmäßiger verteilt und der Flüssigkeitsfilm stabil.
- Zudem trocknete das Virusmaterial nicht ab.
- Von den Kontroll-Keimträgern waren nur 4 Stk. vorhanden, so dass nur 2 Zeitpunkte bestückt werden konnten.

Tab. 2.1: Viruskontrolle - unbeschichtete Keimträger (Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration)

Probe Nr.	VK-1a	VK-1b	VK-2a	VK-2b
Ansatz	1 h		24 h	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	4,8	4,65	4,65	4,5
mittl. Virustiter ± K (95%)¹	5,73 ± 0,25 / mL		5,58 ± 0,32 / mL	

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

Tab. 2.2: Virusinaktivierung - Mundex L (Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration)

Probe Nr.	In-1a	In-1b	In-2a	In-2b	In-3a	In-3b
Ansatz	1 h		8 h		24 h	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	4,5	4,8	3,45	3,45	2,25	2,85
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	5,65 ± 0,29 / mL		4,45 ± 0,30 / mL		3,55 ± 0,27 / mL	
Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%])	0,08 ± 0,38		1,13 ± 0,44		2,03 ± 0,41	

¹ = Berechnung des Titerwertes sowie dessen 95 % Konfidenzintervall 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)

- Innerhalb des Beobachtungszeitraums (hier: bis 24 Std.) war ohne eine zusätzliche Einwirkung keine signifikante Reduktion des Testvirus zu beobachten (Δ Titerwert = 0,15 Log).
- Zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft wurde zu jeder Einwirkzeit der entsprechende 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:

Mundex L - 1 h: RF = 0,08 ± 0,38, 8 h: RF = 1,13 ± 0,44 und 24 h: RF = 2,03 ± 0,41

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.
- **Mundex L:** Nach $t = 1$ h war noch keine Virusreduktion feststellbar/nachweisbar (RF = 0,08). Nach $t = 8$ h betrug die Virusreduktion ca. 1 Log (RF = 1,13 bzw. 90 %). Nach der längsten Kontaktzeit betrug die Virusreduktion ca. 2 Log (RF = 2,03 bzw. 99 %).

Anmerkung:

- Die beobachtete virusinaktivierende Wirkung der Beschichtung wurde mit dem *Adenovirus, Typ 5* erhoben. Dieses Testvirus gehört zu den unbehüllten Viren, die im Allgemeinen signifikant schwerer zu inaktivieren sind als z.B. die behüllten Viren. Die beobachtete Viruswirksamkeit kann nicht notwendigerweise auf andere unbehüllte Viren übertragen werden. Dieses gilt insbesondere für die Enteroviren und die Parvoviren.
- 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 02.10.2020



Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)