

Überprüfung der viruziden Eigenschaften von mit *„VIROLACK (H610)“* ausgerüsteten Testflächen vs. Influenza A Virus (H1N1)

Screeningtestung von beschichteten Keimträgern im praxisnahen viruziden Carriertest durchgeführt in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie die ISO 21702:201 gegenüber Influenza A Virus (*H1N1*)-
Screeningtest S1 vom 11./12.05.2020

Kurzbericht zum Screeningtest S1

von
PD Dr. Olaf Thraenhart und Dr. Christian Jursch

Untersuchung: im Mai 2020
Auftraggeber: Viromed GmbH
Pfaffenberg 6
D-37441 Bad Sachsa

Auftraggeber: Viromed GmbH
Pfaffenberg 6
D-37441 Bad Sachsa

Produkte:

- Testflächen: Leneta[®] Folie; auf die Maße 1,6 cm x 6 cm zugeschnitten
- 1. Produktmuster: einseitig beschichtete Testflächen; beschichtet mit Wirksubstanz (Wirkproben)
- 2. Produktmuster: einseitig beschichtete Testflächen; beschichtet ohne Wirksubstanz (Nullproben)

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, 50 µm) zugeschnitten auf ca. 1,2 x 5 cm (6 cm²)
- Inkubation für 30 Min. und 2 Std. im Klimaschrank KBF 115(Fa Binder)

Testsystem:

- Influenza A Virus; H1N1; Stamm: New Caledonia (Herkunft: Chiron Behring, Marburg)
- MDCK-Zellen (Nierenzellen African green monkey [Cercopithecus aethiops]) (Herkunft: Robert Koch-Institut, Berlin)

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 / beschichtet mit VIROLACK (H610) (Wirkprobe)	bei RT
#2	Keimträger / beschichtet ohne Wirksubstanz (Nullprobe)	bei RT

¹ = zugangsbeschränkt auf das Personal von Eurovir

Ergebnisse:

Beobachtungen:

- Die Testflächen waren weitgehend benetzbar. Durch die Verwendung von Glasspateln konnte ein mehr oder weniger gleichmäßiger Flüssigkeitsfilm erzeugt werden.
- Nach der Abdeckung des Flüssigkeitsfilms mit der Folie blieb das Virusmaterial über die gesamte Standzeit als Film stabil und trocknete innerhalb des Beobachtungszeitraum nicht vollständig aus.

Tab. 2.1: Viruskontrolle (Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration)

Probe Nr.	VK-1a	VK-1a	VK-2a	VK-2b
Produkt(e)	Nullprobe		Nullprobe	
Ansatz	Viruskontrolle / 30 Min		Viruskontrolle / 2 Std.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	3,3	3,6	3,45	3,15
mittl. Virustiter ± K (95%)¹	4,45 ± 0,20 / 1 mL		4,30 ± 0,33 / 1 mL	

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
Produkt(e)	VIROLACK (H610)		VIROLACK (H610)	
Ansatz	Inaktivierung / 30 Min.		Inaktivierung / 2 Std.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	3,6	3	1,5	1,5
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	4,30 ± 0,32 / mL		2,50 ± 0,28 / mL	
Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%])	0,15 ± 0,38		1,80 ± 0,43	

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 wird das Testvirus innerhalb des Beobachtungszeitraums bis 2 Stunden auch bereits ohne eine (zusätzliche) Einwirkung in einem geringen Maße reduziert. Dieses ist im Prinzip bekannt und wurde entsprechend erwartet. Es bleibt anzumerken, dass das Ausmaß der Reduktion gemessen an der allgemeinen Stabilität des verwendeten Testvirus als sehr gering einzustufen ist.
- Zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft der zu testenden Beschichtung wurde zu jeder Einwirkzeit der entsprechende Virusausgangswert bestimmt (Viruskontrolle[n] zu den Zeitpunkten). Der Virusausgangswert zum jeweiligen Zeitpunkt stellt somit den Bezugspunkt zur Ermittlung der produktassoziierten Virusinaktivierung (Reduktion) dar (cf. Tab. 2.1).

- Nach Ablauf der Expositionszeit (t = 30 Min. und 2 Std.) und unter den o.a. Testbedingungen wurden bei den Proben mit der Beschichtung *VIROLACK (H610)* folgende produktassoziierte Reduktionsfaktoren bestimmt: nach t = 30 Min.: RF = 0,15 ± 0,38 und nach t = 2 Stunden: RF = 1,80 ± 0,43 (cf. Tab. 2.2).

Fazit:

- Der auf die Testflächen aufgebrauchte Flüssigkeitsfilm war über den Beobachtungszeitraum stabil d.h. auch am Ende der längsten Einwirkzeit war das Virusmaterial noch nicht vollständig eingetrocknet. Damit sollte ein fortwährender Kontakt zwischen dem Virusmaterial und der Keimträger-Oberfläche über den Beobachtungszeitraum hinweg gegeben gewesen sein. Eine Verteilung des Virusmaterials (z.B. per Diffusion) in der flüssigen Phase war somit möglich).
- Die Daten erlauben den Schluss, dass eine etwaig nachweisbare Virusreduktion ursächlich der Beschichtung mit dem Wirkstoff zugeschrieben werden kann.
- Beschichtung *VIROLACK (H610)*: Die Reaktionsgeschwindigkeit schreitet über den Beobachtungszeitraum eher langsam voran. Nach einer Kontaktzeit von 30 Min. war noch keine Virusinaktivierung erkennbar. Nach 2 Stunden betrug die Virusreduktion 1,8 Logstufen, entsprechend 98,4 %.
- Die beobachtete virusinaktivierende Wirkung der Beschichtung wurde mit dem *Influenza A Virus* erhoben. Dieses Testvirus gilt im Allgemeinen und auch innerhalb der behüllten Viren als leicht inaktivierbar. Das bedeutet, dass die beobachtete Viruswirksamkeit nicht auf andere Viren übertragen werden kann. Dieses gilt auch für andere behüllte Viren.

Anmerkung:

- 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 22.05.2020



Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)