

Überprüfung der viruziden Eigenschaften von biozid ausgerüsteten Testflächen

Testung von viruzid beschichteten Keimträgern im praxisnahen viruziden Carriertest in Anlehnung an die
ISO 21702:2019 gegenüber dem *Bovinen Coronavirus (BoCV; Stamm: S379 Riems)*
- Screeningtest S2 vom 12.06.2020

Kurzbericht zum Screeningtest S2

von

PD Dr. Olaf Thraenhard und Dr. Christian Jursch

Untersuchung: im Juni 2020
Auftraggeber: it coating GmbH
Fabrikstraße 3
D-48599 Gronau

Auftraggeber: it coating GmbH
Fabrikstraße 3
D-48599 Gronau

Produkte:

- Testflächen: Produktmaterial; auf die Maße ca. 1,6 cm x 6 cm (x ca. 1 mm) zugeschnitten
- 1. Muster: Testflächen ohne Wirksubstanz (Nullproben)
- 2. - 3. Muster: einseitig beschichtete Testflächen; beschichtet mit Wirksubstanz (Wirkproben)
- Die Produktmuster (Wirkproben) wurden einem Alterungsprozess unterzogen. Dieser bestand aus einer 700-Zyklen umfassenden (Abrasions)-Behandlung mit dem *aircraft-cleaner A18-S*.

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 cm x 5 cm und anschließend abgedeckt mit Folie (LDPE, 110 µm) zugeschnitten auf 1,2 cm x 5 cm (6 cm²)
- Inkubation: alle Proben für t = 30 Min. im Klimaschrank KBF 115 (Fa Binder)
- Resuspendierung des Probenmaterials in 5 mL Medium

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 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 / Ohne Wirkstoff (Nullprobe)	bei RT
#2	Keimträger / <i>itCoating K 630 V</i> (Wirkprobe)	bei RT
#3	Keimträger / <i>itCoating K 630 N</i> (Wirkprobe)	bei RT

¹ = zugangsbeschränkt auf das Personal von Eurovir

Ergebnisse:

Beobachtungen:

- Die Testflächen waren weitgehend benetzbar. Durch Abdeckung des Flüssigkeitsfilms mit der Folie konnte ein mehr oder weniger gleichmäßiger Flüssigkeitsfilm erzeugt werden. Dieser Flüssigkeitsfilm blieb über die Standzeit stabil und trocknete innerhalb des Beobachtungszeitraums nicht aus.
- Von den Testmustern ging keinerlei zytotoxische Wirkung aus (alle Proben: $\lg \text{TD}_{50} \leq 0,30$)

Tab. 2.1: Viruskontrolle - ohne Wirkstoff (Titerbestimmung mittels Endpunkttitration)

Probe Nr.	VK-1a	VK-1b
Ansatz	Viruskontrolle / 30 Min.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	4,35	4,8
mittl. Virustiter ± K (95%)¹	5,58 ± 0,32/mL	

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

Tab. 2.2: Virusinaktivierung (Titerbestimmung mittels Endpunkttitration)

Probe Nr.	In-6a (#307)	In-6b (#308)
	<i>itCoating K 630 V</i>	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	3,0	3,3
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	4,15 ± 0,33/mL	
Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%])	1,43 ± 0,46	

Probe Nr.	In-9a (#507)	In-9b (#508)
	<i>itCoating K 630 N</i>	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	0,3	1,35
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	1,83 ± 0,34/mL	
Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%])	3,75 ± 0,47	

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 auch bereits ohne eine (zusätzliche) Einwirkung in einem gewissen Maße reduziert werden. Dieses ist bekannt und muss entsprechend hingenommen werden.
- Zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft der zu testenden Beschichtung wurde zu jeder Einwirkzeit der entsprechende Virusausgangswert bestimmt (Viruskontrolle[n]). Dieser Virusausgangswert stellt somit den Bezugspunkt zur Ermittlung der Virusreduktion dar (cf. Tab. 2.1).
- Die Virusreduktion zum jeweiligen Zeitpunkt bestimmt sich aus 1. der eingesetzten Virusmenge minus 2. der Rest-Virusmenge, zurückgewonnen von der Probe (cf. Tab. 2.2).
- *itCoating K 630 V* - mit dieser Beschichtung wurde eine gewisse Virusreduktion beobachtet. Der Reduktionsfaktor wurde zu $RF = 1,43 \pm 0,46$ bestimmt (entsprechend der Inaktivierungsrate 96,2%).
- *itCoating K 630 N* - mit dieser Beschichtung war eine sehr hohe Virusreduktion nachweisbar. Der Reduktionsfaktor betrug $RF = 3,75 \pm 0,47$ (entsprechend der Inaktivierungsrate 99,98%).

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.
- Die nachweisbare Virusreduktion kann somit ursächlich der Beschichtung zugeschrieben werden.
- Die beobachtete virusinaktivierende Wirkung der Beschichtung wurde mit dem *Bovinen Coronavirus* erhoben (aus dem Virus-Genus *Beta-Coronavirus*). 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.

Anmerkung:

- Die oben beschriebenen Daten wurden in einem sog. Screeningtest erhoben. Dieser Test ist ein Basistest, durchgeführt in Anlehnung an das zugrunde liegende Regelwerk und unter Weglassung von Validitätskontrollen. Dieser Test entspricht somit nicht einer umfänglichen Produktvalidierung, durchgeführt in Übereinstimmung mit der ISO 21702.

Luckenwalde, den 06.08.2020

Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)