

Überprüfung der viruziden Eigenschaften von *„BactoAttaQ[®]“*

Testung von viruzid beschichteten Keimträgern im praxisnahen viruziden Carriertest in Anlehnung an die
RKI-Richtlinie (1995) sowie die JIS Z 2801 (2010) gegenüber Influenza A Virus (*H1N1*)-
Testdurchgang S1 vom 20./21.01.2020

Kurzbericht zum Screeningtest S1

von

PD Dr. Olaf Thraenhard und Dr. Christian Jursch

Untersuchung: im Januar 2020
Auftraggeber: C.P.S.-Pharma GmbH
Rehlinger Straße 20
D-66701 Beckingen

Auftraggeber: C.P.S.-Pharma GmbH
Rehlinger Straße 20
D-66701 Beckingen

Produkte:

- Testflächen: *Leneta*[®] Folie, auf die Maße 1,6 cm x 6 cm zugeschnittene Testflächen
- 1. Produkt: Testflächen einseitig beschicht mit *BactoAttaQ*[®] (beinhaltend die Wirksubstanz[en])
- 2. Produkt: unbeschichtete Testflächen (bzw. beschichtet ohne die Wirksubstanz[en])

Testparameter:

- Einwirkbedingungen: T = 21 °C und 60 % r.LF (
- Proteinbelastung: ohne (weitere) Belastung;
das Virusmaterial (Zellkulturüberstand) wurde unverändert aufgetragen
- Volumen/Flächenverhältnis: ca. 20 µL/cm²
- Virussuspension abgedeckt mit Folie (LDPE, 50 µm) und zugeschnitten auf ca. 1,2 x 5 cm (6 cm²)
- Inkubation für 1h, 8h und 24h 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 JIS Z 2801 (2010) im quantitativen viruziden Carriertest bei T = 21 °C und 60 % r.LF (im Klimaschrank) durchgeführt.
- Die Tests wurden ohne zusätzliche Belastung durchgeführt.

Tab. 1: Getestete Produktmuster (erhalten: 13.01.2020)

Lfd. Nr.	Produkt (e)	Lagerung ¹
#1	Keimträger / beschichtet mit <i>BactoAttaQ</i> [®] (beinhaltend die Wirkkomponente(n) / „Wirkprobe“)	bei RT
#2	Keimträger / unbeschichtet (bzw. beschichtet ohne die Wirkkomponente(n) / „Nullprobe“)	bei RT

¹ = zugangsbeschränkt

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. Eine Volumenreduktion war jedoch sichtbar.

Tab. 2.1: Viruskontrolle (Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration)

Probe Nr.	VK-1a	VK-1b	VK-2a	VK-2b	VK-3a	VK-3b
Ansatz	Viruskontr. / 1 Std.		Viruskontr. / 8 Std.		Viruskontr. / 24 Std.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	3,15	3,3	3,45	3,15	2,7	3,15
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	3,23 ± 0,36 / 100 µL		3,30 ± 0,33 / 100 µL		2,93 ± 0,34 / 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	Inaktivierung / 1 Std.		Inaktivierung / 8 Std.		Inaktivierung / 24 Std.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	3,45	3,15	2,4	2,4	1,2	1,2
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	3,30 ± 0,32		2,40 ± 0,29		1,20 ± 0,33	
Reduktion ² (lg ID ₅₀ ± K [95%])	-0,07 ± 0,48		0,90 ± 0,44		1,73 ± 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 wird das Testvirus nach 24 h 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 = 1, 8 und 24 Stunden) und unter den o.a. Testbedingungen wurden folgende produktassoziierte Reduktionsfaktoren bestimmt: nach t = 1 Stunde: RF = -0,07 ± 0,48, nach t = 8 Stunden: RF = 0,90 ± 0,44 und nach t = 24 Stunden: RF = 1,73 ± 0,47 (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 per Diffusion in der flüssigen Phase war möglich).
- Die Daten führen zu dem Schluss, dass eine Virusreduktion, die ursächlich der Beschichtung mit dem Wirkstoff zugeschrieben werden kann, gegeben ist.
- Die Reaktionsgeschwindigkeit schreitet über den Beobachtungszeitraum eher langsam voran. Nach einer Kontaktzeit von 1 Stunde war noch keine Virusinaktivierung erkennbar. Nach 8 Stunden betrug die Virusreduktion ca. 1 Logstufe (entsprechend einer Virusreduktion von ca. 90 %) und nach 24 Stunden knapp 2 Logstufen (entsprechend einer Virusreduktion von ca. 99 %).
- 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.

Luckenwalde, den 04.03.2020

Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)