

Überprüfung der viruziden Eigenschaften von antimikrobiell ausgerüsteten Testflächen

Testung von viruzid beschichteten Keimträgern im praxisnahen Carriertest in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie der ISO 21702:2019 gegenüber dem
Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV-Coronavirus)- Testdurchgang S2 vom 11./12.03.2020

Kurzbericht zum Screeningtest S2

von

PD Dr. Olaf Thraenhart und Dr. Christian Jursch

Untersuchung: im März 2020
Auftraggeber: Munditia Technologies GmbH
Heegstrauchweg 54
D-35394 Gießen

Auftraggeber: Munditia Technologies GmbH
Heegstrauchweg 54
D-35394 Gießen

Produkte:

- Testflächen: Mattglas-Keimträger (nach RKI; 1,6 cm x 6 cm) mit vom Auftraggeber aufgebrachtem Produkt (Beschichtung)
- 1. Testflächen, einseitig beschichtet mit Wirksubstanz *Mundex L*
- 2. Testflächen, einseitig beschichtet mit Wirksubstanz *Mundex W*
- 3. Testflächen ohne Wirksubstanz (Nullproben)

Testparameter:

- Einwirkbedingungen: T = 25 °C und 90 % r.LF (
- Proteinbelastung: ohne (weitere) Belastung; das Virusmaterial (Zellkulturüberstand) wurde unverändert aufgetragen
- Volumen/Flächenverhältnis: ca. 25 µL/cm²
- Virussuspension nicht abgedeckt mit Folie (
- Inkubation für 1h, 8h und 24h im Klimaschrank KBF 115 (Fa Binder)

Testsystem:

- Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine (TGEV-Coronavirus), Stamm: Toyama 36 [eingesetzt als Modellvirus für das SARS-CoV]
(Herkunft: Virusbank des Friedrich Löffler-Instituts, Insel Riems)
- ST75/2 cells (foetal testis cells of swine)
(Herkunft: Robert Koch-Institut, Berlin)

Testverfahren:

- Die Versuche wurden in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie der 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

Lfd. Nr.	Produkt (e)	Lagerung ¹
#1	Keimträger / unbeschichtet (Nullprobe)	bei RT
#2	Keimträger / beschichtet mit Wirkkomponente Mundex L (Wirkprobe #1)	bei RT
#3	Keimträger / beschichtet mit Wirkkomponente Mundex W (Wirkprobe #2)	bei RT

¹ = zugangsbeschränkt

Ergebnisse:

Beobachtungen:

- Die Testflächen waren benetzbar. Durch die Verwendung von Glasspateln konnte ein mehr oder weniger gleichmäßiger Flüssigkeitsfilm erzeugt werden. Mit dem Produkt *Mundex W* erschien die Beschichtung mit Virusmaterial gleichmäßiger.
- Während der Resuspendierung des Virusmaterials mittels Glasspatel kam es teilweise zu einer Ablösung der Beschichtung von Glaskeimträger. Dabei ist anzumerken, dass die glatte Seite der Glaskeimträger mit dem Produkt beschichtet war.

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)	4,65	4,5	4,5	4,35	4,05	3,6
mittl. Virustiter ± K (95%)¹	5,58 ± 0,26 / 1 mL		5,43 ± 0,29 / 1 mL		4,83 ± 0,25 / 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	In-3a	In-3b
Ansatz	Inaktivierung / 1 Std.		Inaktivierung / 8 Std.		Inaktivierung / 24 Std.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	3,15	3,3	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,30
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	4,23 ± 0,25 / mL		≤ 1,30 / mL		≤ 1,30 / mL	
Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%])	1,35 ± 0,36		≥ 4,13 ± 0,29		≥ 3,53 ± 0,25	

Probe Nr.	In-4a	In-4b	In-5a	In-5b	In-6a	In-6b
Ansatz	Inaktivierung / 1 Std.		Inaktivierung / 8 Std.		Inaktivierung / 24 Std.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	4,8	4,8	2,1	2,55	≤ 0,30	≤ 0,30
mittl. Virustiter ± K (95%) ¹	5,80 ± 0,33 / mL		3,33 ± 0,27 / mL		≤ 1,30 / mL	
Reduktion² (lg ID₅₀ ± K [95%])	-0,22 ± 0,42		2,10 ± 0,40		≥ 3,53 ± 0,25	

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)

- Ohne die in der ISO 21702 empfohlene Bedeckung des Virusmaterials durch die LDPE-Folie wurde die Menge an vermehrungsfähigem Virus im Verlauf des Beobachtungszeitraums vergleichsweise wenig reduziert (nach 8 h um ca. 0,15 Log und nach 24 h um ca. 0,75 Log).
- Bemerkenswert ist dieses Ergebnis insbesondere für den 24 h-Wert, da in einer parallel ausgeführten Testung mit Folienabdeckung ein Verlust an infektiösem Virus nach 24 h um ca. 2 Log beobachtet wurde.
- Zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft der zu testenden Beschichtung wurde zu jeder Einwirkzeit der entsprechende Virusausgangswert bestimmt (Viruskontroll[en]). Der jeweilige Virusausgangswert stellt somit den Bezugspunkt zur Ermittlung der produktassoziierten Virusreduktion dar (cf. Tab. 2.1).
- Nach Ablauf der Expositionszeit (t = 1, 8 und 24 Stunden) und unter den o.a. Testbedingungen wurden für das Produkt Mundex L die folgenden Reduktionsfaktoren bestimmt: nach t = 1 Stunde: $RF = 1,35 \pm 0,36$, nach t = 8 Stunden: $RF \geq 4,13 \pm 0,29$ und nach t = 24 Stunden $RF \geq 3,53 \pm 0,25$. Bereits nach 8 h (und auch nach 24 h) war kein Restvirus mehr nachweisbar.
- Mit dem Produkt Mundex W wurden die folgenden Reduktionsfaktoren bestimmt: nach t = 1 Stunde: $RF = -0,22 \pm 0,42$, nach t = 8 Stunden: $RF = 2,10 \pm 0,40$ und nach t = 24 Stunden $RF \geq 3,53 \pm 0,25$. Nach 24 h war kein Restvirus mehr nachweisbar.

Fazit:

- Der auf die Testflächen aufgebrachte 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 und eine Verteilung des Virusmaterials per Diffusion in der flüssigen Phase war möglich.
- Für das Produkt Mundex L konnte mit einer Virusreduktion gegenüber dem TGEV-Coronavirus von mehr als 99,99 % eine sehr überzeugende Wirksamkeit nachgewiesen werden.
- Aber auch das Mundex W war mit einer Reduktion von mehr als 99,97 % nach 24 h hochgradig wirksam gegenüber dem TGEV-Coronavirus.
- Es kann festgehalten werden, dass die nachgewiesene Virusreduktion ursächlich den verschiedenen Wirkkomponenten (innerhalb der Beschichtung) zugeschrieben werden kann und dass eine gute bzw. eine sehr gute Wirksamkeit gegenüber dem TGEV-Coronavirus (als Modellvirus für das SARS-CoV) verzeichnet werden konnte.
- Es sollte noch erwähnt werden, dass die Bedingungen der ISO 21702 eine höhere Inkubationstemperatur vorsehen als in S1 zur Anwendung kam (25 vs. 21 °C).
- Bei denjenigen Proben, bei denen mit der Endpunkttitrationmethode kein Restvirus mehr nachweisbar war, könnte möglicherweise mit der Virustiterbestimmung mittels Large Volume Plating (LVP) eine verbesserte Aussage erzielt werden.

Luckenwalde, den 20.03.2020

Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)