

## Überprüfung der viruziden Eigenschaften von „*BactoAttaQ*<sup>®</sup>“

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

**Testparameter:**

- Einwirkbedingungen: T = 25 °C und 90 % r.LF (
- Proteinbelastung: ohne (weitere) Belastung;  
das Virusmaterial (Zellkulturüberstand) wurde unverändert aufgetragen
- Volumen/Flächenverhältnis: ca. 25 µL/cm<sup>2</sup>
- Virussuspension abgedeckt mit Folie (LDPE, 50 µm) und zugeschnitten auf ca. 1,2 x 5 cm (6 cm<sup>2</sup>)
- 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 (erhalten: 08.03.2020)**

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

<sup>1</sup> = 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 <sub>50</sub> )	4,2	4,8	4,05	3,9	2,25	2,85
<b>mittl. Virustiter ± K (95%)<sup>1</sup></b>	<b>5,50 ± 0,37 / 1 mL</b>		<b>4,98 ± 0,35 / 1 mL</b>		<b>3,55 ± 0,37 / 1 mL</b>	

<sup>1</sup> = 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 <sub>50</sub> )	3,6	3,45	1,35	1,2	≤ 0,30	≤ 0,30
mittl. Virustiter ± K (95%) <sup>1</sup>	4,53 ± 0,22 / mL		2,28 ± 0,29 / mL		≤ 1,30 / mL	
<b>Reduktion<sup>2</sup> (lg ID<sub>50</sub> ± K [95%])</b>	<b>0,97 ± 0,43</b>		<b>2,70 ± 0,46</b>		<b>≥ 2,25 ± 0,37</b>	

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

<sup>2</sup> = Virusreduktion: lg ID<sub>50</sub> der Viruskontrolle minus lg ID<sub>50</sub> der Probe; nach der DVV/RKI-Leitlinie

**Ergebnisse: (cf. Tab. 2)**

- Trotz Bedeckung des Virusmaterials durch die LDPE-Folie wurde die Menge an vermehrungsfähigem Virus bereits ohne eine (zusätzliche) Einwirkung auf dem Trägermaterial um einen gewissen Betrag reduziert (nach 8 h um ca. 0,5 Log und nach 24 h um ca. 2 Log).
- Deshalb wurde zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft der zu testenden Beschichtung zu jeder Einwirkzeit der entsprechende Virusausgangswert bestimmt (Viruskontroll[en]). Der Virusausgangswert zum jeweiligen Zeitpunkt stellt somit den Bezugspunkt zur Ermittlung der produktassoziierten Virusinaktivierung (Virusreduktion) 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 = 0,97 ± 0,43 und nach t = 8 Stunden: RF = 2,70 ± 0,46. Nach t = 24 Stunden war kein Restvirus mehr nachweisbar und die Virusreduktion betrug RF ≥ 2,25 ± 0,37.
- Zum Zeitpunkt t = 24 Stunden war die Virusmenge bei der Viruskontrolle bereits um ca. 2 Log reduziert. Damit war der nachweisbare Reduktionsfaktor aus technischen Gründen für den Zeitpunkt t = 24 h scheinbar geringer als nach t = 8 h.

**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 und eine Verteilung des Virusmaterials per Diffusion in der flüssigen Phase war möglich.
- Nach  $t = 1$  h war bereits eine Virusreduktion von 0,97 Log zu verzeichnen (entspr. 90 %) und nach  $t = 8$  h betrug der Reduktionsfaktor  $RF = 2,7$  (entspr. 99,8 %). Aus technischen Gründen betrug der nachweisbare Virusreduktionsfaktor nach  $t = 24$  h  $RF \geq 2,25$ .
- Es bleibt festzuhalten, dass die nachgewiesene Virusreduktion ursächlich der Wirkkomponente (innerhalb der Beschichtung) zugeschrieben werden kann und das eine 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).
- Die Virusreduktion nach  $t = 8$  h legt nahe, dass bei der Inkubationszeit  $t = 24$  h eine höhere Virusreduktion evident ist als mit der Endpunktitrationmethode nachgewiesen werden konnte. Hier kann möglicherweise die Virustiterbestimmung mittels Large Volume Plating (LVP) eine bessere Aussage liefern.

Luckenwalde, den 25.03.2020



Dr. Ch. Jursch  
(GF und Laborleiter Eurovir)