

## Überprüfung der viruziden Eigenschaften von mit Profungit beschichteten Testflächen

Screeningtest im praxisnahen Carriertest in Anlehnung an die RKI-Richtlinie (1995) sowie die  
ISO 21702:2019 gegenüber dem *Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV-Coronavirus)*  
- Testdurchgang S3 vom 10.08.2020

### Kurzbericht zum Screeningtest S3

von

PD Dr. Olaf Thraenhard und Dr. Christian Jursch

**Untersuchung:** im August 2020  
**Auftraggeber:** USP Spezialfarben  
Günter Effenberger  
Freiligrathstr.12  
D-50935 Köln

**Auftraggeber:** USP Spezialfarben  
Günter Effenberger  
Freiligrathstr.12  
D-50935 Köln

**Produkte:**

- Testflächen: Mattglas-Keimträger 1,6 cm x 6 cm (gemäß RKI)
- Wirkproben: Keimträger einseitig beschichtet mit *Profungit* (aufgetragen aus der Produktlösung)
- Kontrollproben: unbeschichtete Keimträger (Nullproben)
- Probeneingang *Profungit*-Lösung: 21.02.2020

**Testparameter:**

- Einwirkbedingungen: T = 25 °C und 90 % r.LF (nach ISO 21702)
- Proteinbelastung: ohne (weitere) Belastung;  
das Virusmaterial (Zellkulturüberstand) wurde unverändert aufgetragen
- Volumen/Flächenverhältnis: ca. 25 µL/cm<sup>2</sup> auf einer Fläche von 6 cm<sup>2</sup>
- Inkubation für 10 Min. und 20 Min. 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: 21.01.2020)**

Lfd. Nr.	Produkt (e)	Lagerung <sup>1</sup>
#1	Keimträger / beschichtet mit <i>Profungit</i> (mit Wirkkomponente / bzw. Wirkprobe)	bei RT
#2	Keimträger / unbeschichtet (ohne Wirkkomponente / bzw. Nullprobe)	bei RT

<sup>1</sup> = zugangsbeschränkt

**Beschichtung der Keimträger mit Produkt**

- Pro Keimträger wurden 60 µL Produkt aufgebracht und mit einem Spatel gleichmäßig ausgestrichen. Dieses ergab eine gleichmäßige Beschichtung, die nach 30 Min. augenscheinlich abgetrocknet war.
- Die Keimträger wurden zur weiteren Trocknung der Beschichtung über-Nacht bei RT gelagert und am Folgetag im Versuch eingesetzt.

**Beobachtungen**

- Am Testtag (*d1 nach Beschichtung der Keimträger mit Produkt*) war die Beschichtung als transparenter bis leicht opaker Film auf den Keimträgern sichtbar.
- Die Testflächen waren gut benetzbar. Mittels Glasspatel konnte ein gleichmäßiger (Virus)-Flüssigkeitsfilm erzeugt werden.

**Ergebnisse der Virustitrationen**

**Tab. 2.1: Viruskontrolle** (*Virustiterbestimmung mittels Endpunkttitration*)

Probe Nr.	VK-1a	VK-1b	VK-2a	VK-2b
Ansatz	Viruskontr. / 10 Min.		Viruskontr. / 20 Min.	
Titer/Testvol. (lg ID <sub>50</sub> )	4,2	4,2	3,75	3,6
mittl. Virustiter ± K (95%) <sup>1</sup>	<b>5,20 ± 0,40/mL</b>		<b>4,68 ± 0,22/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
Ansatz	Inaktivierung / 10 Min.		Inaktivierung / 20 Min.	
Titer/Testvol. (lg ID <sub>50</sub> )	1,35	1,8	1,2	0,75
mittl. Virustiter ± K (95%) <sup>1</sup>	1,58 ± 0,32/mL		0,98 ± 0,29/mL	
<b>Reduktion<sup>2</sup></b> <b>(lg ID<sub>50</sub> ± K [95%])</b>	<b>2,62 ± 0,51</b>		<b>2,70 ± 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

- Die Menge an vermehrungsfähigem Virus wurde auch bereits in der vergleichsweise kurzen Beobachtungszeit (bis 20 Min.) auch ohne eine (zusätzliche) Einwirkung um einen gewissen Betrag reduziert.
- Zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft der zu testenden Beschichtung wurde 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 = 10 und 20 Minuten) und unter den o.a. Testbedingungen wurden folgende produktassoziierte Reduktionsfaktoren bestimmt:  
 nach t = 10 Minuten: RF = 2,62 ± 0,51 und nach t = 20 Minuten: RF = 2,70 ± 0,37.

**Fazit:**

- Der auf die Testflächen aufgebrauchte Flüssigkeitsfilm war über den Beobachtungszeitraum stabil. 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).
- Bereits nach einer Einwirkzeit von  $t = 10$  Minuten war eine signifikante Virusreduktion nachweisbar. Der Reduktionsfaktor betrug 2,62 Zehnerlogstufen (entsprechend 99,7 %).
- Nach weiteren 10 Min. ( $t = 20$  Min.) erschien die Virusreduktion mit  $RF = 2,7$  praktisch unverändert.
- Ein etwaiger Wirksamkeits-Unterschied zwischen den beiden gewählten Zeitpunkten lag möglicherweise im Bereich des Auflösungsvermögens des angewandten Titrationsverfahrens.
- Es bleibt festzuhalten, dass unter den Testbedingungen und bereits innerhalb von 10 Minuten eine signifikante virusinaktivierende Wirkung gegenüber TGEV belegt werden konnte. Diese virusinaktivierende Wirkung konnte ursächlich der Beschichtung bzw. der/den Wirkkomponente(en) zugeschrieben werden und erreichte einen Wert von 2,6 Zehnerlogstufen oder 99,7 %.

**Anmerkung:**

- Die beobachtete virusinaktivierende Wirkung der Beschichtung wurde mit dem *TGEV-Coronavirus* erhoben. 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.
- 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 18.08.2020



Dr. Ch. Jursch  
(GF und Laborleiter Eurovir)