

Testování virucidní aktivity přípravku „Liquid Guard“

Vyšetření testovaných povrchů vybavených virucidním aktivním povlakem za použití praxi blízkého zkušební soustavy nosičů podle metodik RKI-Richtlinie (1995) a JIS Z 2801 (2010) proti viru chřipky A (H1N1) – Zkouška S1 ze dne 20./21.01.2020

Krátká zpráva: Screeningová zkouška S1

Provedli: PD Dr. Olaf Thraenhard a Dr. Christian Jursch

Zkušební období: v lednu 2020

Zadavatel: Nano-Care Deutschland AG
Alfred Nobel-Straße 10
D-66793 Saarwellingen, Německo

Eurovir Hygiene-Labor GmbH
Im Biotechnologiepark 9
D-14943 Luckenwalde / Germany
Vrchní ředitel: Dr. Christian Jursch
Hlavní akcionář: PD Dr. Olaf Thraenhard

Okresní soud: Potsdam
Číslo v obchodním rejstříku: HRB 26128 P
Daňové identifikační číslo: 050/108/05610
Identifikační číslo pro DPH: DE 288 863 508

Bankovní údaje: Mittelbrandenburgische
Sparkasse in Potsdam
SWIFT/BIC: WELA DE D1 PMB
IBAN: DE14 1605 0000 1000 9939 37

Přípravky

- Zkušební povrchy: fólie Leneta® o rozměrech 1,6 cm × 6 cm
- 1. zkušební položka: zkušební povrchy potažené z jedné strany přípravkem Liquid Guard (obsahující aktivní složku/y)
- 2. zkušební položka: nepotažené zkušební povrchy (nebo potažené bez aktivní složky/složek)

Zkušební parametr

- Zkušební podmínky: T = 21°C a 60 % r. LF
- Proteinové zatížení: žádné další proteinové zatížení; virový materiál (supernatant buněčné kultury) byl rozprostřen na povrch(y) bez jakékoliv další manipulace / alterace.
- Poměr objem / plocha: 20 µL / cm²
- Suspenze viru pokrytá fólií (LDPE, 50 µm) o rozměrech 1,2 × 5 cm (6 cm)
- Inkubace: 1 h, 8 h a 24 h v klimatické komoře KBF 115 (Fa Binder)

Zkušební soustava

- Virus chřipky A; H1N1; kmen: Nová Kaledonie (Původ: Chiron Behring, Marburg, Německo)
- MDCK buňky (ledvinové buňky z kočkodana obecného [Cercopithecus aethiops]) (Původ: Robert Koch-Institut, Berlín, Německo)

Zkušební postup

- Zkouška byla provedena podle a. standardu RKI-Richtlinie (1995) a také b. standardu JIS Z 2801 (2010).
- Princip zkoušky: kvantitativní zkouška s virucidním nosičem při T = 21°C a 60% r.LF (klimatická komora)
- Zkouška byla provedena bez (přidané) proteinové zátěže

Tab. 1: Testované vzorky přípravku (přijaté k 13.01.2020)

No.	Přípravek (Přípravky)	Podmínky skladování ¹
#1	Zkoušený předmět / potažená přípravkem Liquid Guard (obsahujícím virucidní aktivní složku/y / „zkušební vzorek“)	při RT
#2	Zkoušená položka / nepotahovaná (nebo potažená bez virucidní aktivní složky/složek) / „kontrolní vzorek“)	při RT

1 = přístup omezen na personál společnosti Eurovir

Výsledky testu

Pozorování

- Testovací povrchy byly do značné míry smáčitelné vodnou virovou suspenzí. Lze tak pomocí skleněných špachtlí dosáhnout víceméně rovnoměrného tekutého filmu.
- Po zakrytí viru LDPE folií zůstal materiál viru stabilní jako film po celou dobu pozorování a nevyschl. Bylo však zaznamenáno snížení objemu.

Tab. 2.1: Kontrola viru (titrace viru omezením ředění)

Vzorek	VK-1a	VK-1b	VK-2a	VK-2b	VK-3a	VK-3b
	Kontrola viru / 1 h		Kontrola viru / 8 h		Kontrola virů / 24 h	
Titr / Zkušební objem (lg ID ₅₀)	3,15	3,3	3,45	3,15	2,7	3,15
prům. titr viru ± K (95%)¹	3,23 ± 0,36 / 100 µL		3,30 ± 0,33 / 100 µL		2,93 ± 0,34 / 100 µL	

¹ = Výpočet titru viru a jeho 95% intervalu spolehlivosti podle EN14476

Tab. 2.2: Inaktivace viru (titrace viru omezením ředění)

Vzorek	In-1a	In-1b	In-2a	In-2b	In-3a	In-3b
	Inaktivace / 1 h		Inaktivace / 8 h		Inaktivace / 24 h	
Titr / Zkušební objem (lg ID ₅₀)	3,45	3,15	2,4	2,4	1,2	1,2
prům. titr viru ± K (95%) ¹	3,30 ± 0,32		2,40 ± 0,29		1,20 ± 0,33	
Redukce (lg ID50 ± K [95%])²	-0,07 ± 0,48		0,90 ± 0,44		1,73 ± 0,47	

¹ = Výpočet titru viru a jeho 95% intervalu spolehlivosti podle EN14476

² = Redukce viru: lg ID 50 virového vstupu (kontrola viru) minus lg ID 50 vzorku (v daném časovém bodě)

Inaktivace viru: (srov. Tab. 2)

- Po nanesení virového materiálu na povrch bylo možné pozorovat určité snížení titru viru u téměř všech virů. Míra tohoto snížení je daná uplynulým časem a dochází k ní i bez jakéhokoliv jiného vlivu. To platí také pro testovací virus používaný při tomto testování. Po h po dobu 24 hodin byla na testovaném povrchu patrná redukce titru viru o 0,3 Log (srov. Tab. 2.1). Je však třeba poznamenat, že toto snížení lze ve srovnání s 1) považovat za velmi nízké. obecná vytrvalost viru chřipky a b). jiné viry (i neobalené viry).
- Pro vyhodnocení schopnost zkušebního povlaku, coby jediného faktoru, inaktivovat virus byla v každém testovaném časovém bodě analyzována jednotlivá kontrola vůči vstupu viru. Při množství vstupního viru v daném časovém bodě (srov. Tab. 2.1) a při odpovídajícím množství zbývajících testovacího viru (srov. Tab. 2.2) lze stanovit faktor redukce viru.
- Po uplynutí inkubační doby a za výše uvedených zkušebních podmínek činil faktor redukce viru spojený s povlakem obsahujícím aktivní složku RF = -0,07 ± 0,48 po 1 h, RF = 0,90 ± 0,44 po 8 hodinách a až RF = 1,73 ± 0,47 po 24 hodinách (srov. Tab. 2.2).

Závěry

- Virový film aplikovaný na testované předměty a pokrytý LDPE folií byl stabilní po celou dobu pozorování. To znamená, že virový film zůstal v kapalném stavu i na konci nejdelší doby expozice (24 hodin) a nebyl vysušen. Tímto byl zajištěn neustálý kontakt mezi virovým materiálem a povrchem testovacího nosiče po celou dobu pozorování a bylo dáno rozprostření virového materiálu v kapalně fázi hnané difúzí.
- Získaná data umožňují dospět k závěru, že došlo k redukci viru, kterou lze připsat povlaku obsahujícímu aktivní složku (složky).
- Míra redukce viru postupovala během pozorovacího období poměrně pomalu. Inaktivace viru nebyla detekovatelná po kontaktní době 1 hodiny a po 8 hodinách byla redukce viru přibližně 1 Log (což odpovídá redukci viru o přibližně 90%). Po 24 hodinách dosáhla redukce viru hodnoty přibližně 2 Log (což odpovídá snížení přibližně o 99%).
- Pozorovaný virus inaktivující účinek povlaku (obsahujícího aktivní složku/y byl stanoven za použití viru chřipky A jako testovacího viru. Tento virus je obecně považován za snadno inaktivovaný, a to i ve srovnání s jinými obalenými viry. To znamená, že pozorovaná schopnost inaktivace viru testovaným povlakem, stanovené s použitím viru chřipky A, nemůže být nutně přenositelná na jiné viry. Toto platí i pro další obalené viry.

Luckenwalde, 4. března 2020

Dr. Ch. Jursch
(GF a vedoucí laboratoře Eurovir)