

## **Memorandum zur Verwendung von Molekularsiebfiltrations-Säulen in der Desinfektionsmittelprüfung**

(Stand: 18. Mai 2013)

Bei der Desinfektionsmittelprüfung muss zum Nachweis der virus-inaktivierenden Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels eine Titerreduktion um 4  $\log_{10}$ -Stufen nach der angegebenen Einwirkzeit nachgewiesen werden. Da einige Desinfektionsmittel jedoch eine starke Zytotoxizität aufweisen, kann diese Titerreduktion nicht immer erreicht werden. In der EN 14476 und der Leitlinie der DVV/RKI wird für solche Fälle eine „Entgiftung“ des Prüfgemisches durch Molekularsiebfiltration z.B. mittels Sephadex<sup>TM</sup> LH 20 Säulen vorgeschlagen. Mit diesem Verfahren kann die Zytotoxizität in Abhängigkeit von den Wirkstoffen in der Regel um eine  $\log_{10}$ -Stufe verringert werden. In einigen Laboren werden die Molekularfiltrations-Säulen auch bei nicht zytotoxischen Desinfektionsmitteln zum Abstoppen der virusinaktivierenden Wirkung eingesetzt.

Die Erfahrungen in mehreren Laboren haben gezeigt, dass in diesen Molekularsiebverfahren infektiöse Viren in nicht vorhersagbarer Weise zurückgehalten werden und somit zu falschen Ergebnissen führen können. Es wird eine virus-inaktivierende Wirksamkeit vorgetäuscht, die tatsächlich nicht vorhanden ist. Dieser Effekt konnte bei verschiedenen Virus-Spezies und bei Desinfektionsmitteln mit unterschiedlicher Wirkstoffbasis beobachtet werden. Tabelle 1 zeigt verschiedene Beispiele mit und ohne Einsatz der Molekularfiltrations-Säulen: Bei den QAV-basierten Formulierungen 1, 3 und 4 kam es zu deutlicher Zurückhaltung infektiöser Viren in den Säulen, während bei dem QAV-basiertem Präparat 2 keine Beeinflussung zu beobachten war.

In direkten Vergleichsstudien von Prüfgemischen, filtriert und unfiltriert, wurden Titerunterschiede von bis zu 3  $\log_{10}$ -Stufen gemessen. Bei der parallelen Titrationen der Viruskontrollen gab es diesen Rückhalte-Effekt nicht.

Daraus resultiert die Hypothese, dass die Zusammensetzung des Prüfgemisches, bestehend aus Desinfektionsmittel, Testvirussuspension und gegebenenfalls Proteinbelastung, der kritische Faktor ist.

In einigen Gutachten und Publikationen findet man immer wieder Desinfektionsmittelprüfungen, die ausschließlich unter Verwendung dieser Molekularsiebfiltration durchgeführt wurden. In Einzelfällen fällt es schwer, die Richtigkeit dieser Daten sicher zu bewerten. Es fehlen Vergleichsansätze, die belegen, dass kein Restvirus in den Säulen zurückgehalten wurde. Wir möchten deshalb darauf hinweisen, dass bei Desinfektionsmittelprüfungen, in denen ohne „Entgiftung“ die geforderte Titerreduktion nicht erreicht werden kann, alle Zeitpunkte mit und ohne Molekularsiebfiltration gemessen werden müssen. Auf diese Weise kann erkannt werden, ob Virus in den eingesetzten Säulen verblieben ist. Gegebenenfalls müssen andere Maßnahmen (z. B. höhere Virustiter) eingesetzt

werden. Zum Abstoppen der virusinaktivierenden Wirkung in nicht zytotoxischen Lösungen sind diese Säulen ungeeignet, da vor allem bei kurzen Einwirkzeiten der genaue Zeitpunkt des Abstoppens nicht so genau bestimmt werden kann wie beim Anlegen von Verdünnungsreihen.

Tabelle 1: Beispiele von Virustitern in Desinfektionsmittelprüfungen mit und ohne Einsatz der Molekularfiltrations-Säulen

Wirkstoff	Konzentration	Prüfvirus	Belastung	Zytotoxizität	Säule	Virustiter Kontrolle	Virustiter ( $\log_{10}$ TCID <sub>50</sub> /ml) nach			
							5 min	15 min	30 min	60 min
QAV 1	1%	Rota	Aqua bidest.	3,50	nein	7,13 ± 0,37	6,00 ± 0,38	5,63 ± 0,41	5,63 ± 0,41	n.d.
				2,50	ja	7,00 ± 0,38	≤ 2,50 ± 0,00	≤ 2,50 ± 0,00	≤ 2,50 ± 0,00	n.d.
QAV 2	0,25%	Rota	Aqua bidest.	3,50	nein	7,13 ± 0,37	6,75 ± 0,33	6,75 ± 0,44	5,88 ± 0,37	n.d.
				2,50	ja	7,00 ± 0,38	6,63 ± 0,25	6,50 ± 0,35	6,75 ± 0,44	n.d.
QAV 3	1%	Adeno	FKS	3,50	nein	7,64 ± 0,29	n.d.	n.d.	n.d.	5,79 ± 0,37
				3,50	ja	7,50 ± 0,40	n.d.	n.d.	n.d.	≤ 3,50 ± 0,00
		SV40		3,50	nein	7,79 ± 0,37	n.d.	n.d.	n.d.	5,21 ± 0,55
				3,50	ja	7,79 ± 0,37	n.d.	n.d.	n.d.	≤ 3,50 ± 0,00
QAV 4	1%	Adeno	FKS	3,50	nein	7,64 ± 0,29	n.d.	n.d.	n.d.	6,07 ± 0,49
				2,50	ja	7,50 ± 0,40	n.d.	n.d.	n.d.	≤ 2,50 ± 0,00
	0,5%	SV40		4,50	nein	7,79 ± 0,37	n.d.	n.d.	n.d.	6,36 ± 0,29
				3,50	ja	7,79 ± 0,37	n.d.	n.d.	n.d.	≤ 3,50 ± 0,00
							<b>1 min</b>	<b>2 min</b>	<b>3 min</b>	<b>5 min</b>
Alkohol + CHG	80%	Adeno	Aqua bidest.	4,50	nein	8,00 ± 0,46	n.d.	6,75 ± 0,33	n.d.	n.d.
				2,50	ja	7,25 ± 0,44	n.d.	≤ 2,63 ± 0,25	n.d.	n.d.