

Allgemeine Angaben

Auftraggeber:

Dr. Hönle AG
UV Technology
Aaron Sedlmeier
Lochhamer Schlag 1
D-82166 Gräfelfing

Projektleiter:

Universitätsklinikum Frankfurt
Institut für Medizinische Virologie
Dr. Sandra Westhaus
Paul-Ehrlich-Str. 40
D-60596 Frankfurt

Projektbeginn: 24.03.2020

Projektende: 15.06.2020

Projektziel: Durchführung einer Versuchsreihe zur Inaktivierung von SARS-CoV2 (Coronavirus) durch UV-Strahlung

Projektziel:

Untersuchung der Wirksamkeit von UV-C Strahlung auf SARS-CoV-2 hinsichtlich der vollständigen Inaktivierung des Virus

Projektorganisation:

Nach initialer telefonischer Kontaktaufnahme durch die Firma Dr. Hönle AG wurde im weiteren Verlauf telefonisch und schriftlich das experimentelle Vorgehen besprochen. Akteure war dabei vor allem Herr Benedikt Nagel (Dr. Hönle AG) und Frau Dr. Sandra Westhaus (Institut für Medizinische Virologie, UKF). Ein Forschungs- und Entwicklungsvertrag zwischen der Dr. Hönle AG und der Goethe-Universität wurde geschlossen. Dieser beinhaltet im Wesentlichen den Vertragsgegenstand, Durchführung der Arbeit mit kurzen Projektplan, Finanzierung, Veröffentlichung und Schutzrechte sowie Nutzungsrechte und Haftung. Nach Unterzeichnung des Vertrages erfolgte durch Herrn Nagel bei einem vor Ort Besuch am 29.04.2020 die Einweisung in die Bedienung zweier UV-Strahler. Eine detaillierte, Schritt-für-Schritt Bedienungsanweisung wurde ebenfalls ausgehändigt. Schriftlich wurden die exakten Bedingungen für der Bestrahlung der Proben festgelegt. Die Durchführung der Versuche erfolgte durch Frau Dr. Westhaus in der S3-Anlage des Instituts für Medizinische Virologie im Zeitraum vom 01.05.2020 bis zum 05.05.2020. Nach telefonischer Rücksprache mit Herrn Nagel bzgl. der ersten Ergebnisse, wurde eine Vertragserweiterung und die Durchführung einer zusätzlichen Versuchsreihe beschlossen. Die Ergebnisse wurden der Firma Dr. Hönle AG in Form eines Zwischenberichtes am 10.05.2020 zur Verfügung gestellt. Weitere Versuche wurden nicht durchgeführt. Das Projekt wird mit Ausstellung eines Abschlussberichts durch die durchführende Einrichtung (Institut für Medizinische Virologie, Goethe-Universität Frankfurt) als beendet erklärt. Die entstandenen Kosten sind durch die Firma Dr. Hönle AG entsprechend der ausgestellten Rechnung zu begleichen.

Projektdurchführung

Alle Arbeiten mit SARS-CoV-2 wurden entsprechend der Risikogruppe 3 des Virus in einem gentechnischen Labor der Sicherheitsstufe 3 durchgeführt. Der Zugang ist ausschließlich auf erfahrenes und unterwiesenes Personal des Instituts für Medizinische Virologie beschränkt. Das

Testverfahren beruht auf einem Zellkultur-basierten *in vitro* System. Die Durchführung aller Experimente erfolgte in Form von biologischen Triplikaten.

Experimenteller Ablauf: Eine SARS-CoV-2 Suspension mit einem Titer von 1×10^5 TCID₅₀/mL wurde hergestellt und jeweils 50 µL der Suspension auf der Oberfläche eines wells einer 24-well Zellkulturplatte (Greiner) ausgebracht. Pro Zellkulturplatte wurde nur jeweils das well an Position C2 benutzt. Die Bestrahlung der Probe erfolgte erst nach vollständigem Eintrocknen der Suspension (ca. 4 Stunden nach Ausbringen auf die Zellkulturplatte). Vor Beginn der Bestrahlung wurden die UV-C Strahler entsprechend der Vorgaben durch die Dr. Hönle AG (Bedienungsanleitung) in Betrieb genommen. Die Konditionen der Experimente waren wie folgt:

UVA Cube:

Abstand UV-C Quelle zur Probe – fest (durch Konstruktion des Gerätes vorgegeben)

Strahlungsdosis – fest (durch Konstruktion / Voreinstellung m Gerät vorgegeben)

Strahlungsdauer – 2, 4, 15, 35 und 210 Sekunden

LED CUBE 100 IC:

Abstand UV-C Quelle zur Probe – fest (durch Konstruktion des Gerätes vorgegeben)

Strahlungsdosis – fest (durch Konstruktion / Voreinstellung m Gerät vorgegeben)

Strahlungsdauer – 0.5, 1.0 und 3.5 Sekunden

Im Anschluss an die Bestrahlung wurde das eingetrocknete Virus durch Zugabe vom 1 mL Kulturmedium wieder in Suspension gebracht und Zielzellen mit der Virussuspension inkubiert. 48 Stunden nach der Inokulation mit der virushaltigen Suspension ist bei infizierten Zellen ein zytopathischer Effekt zu beobachten (Absterben der Zellen). Zur Bestimmung des Virustiters von behandelten und unbehandelten (Kontrolle) Proben wurden die Virussuspension titriert und der Titer nach der Methode von Spearman und Kaerber ermittelt. Die Berechnung der Reduktion des Virustiters (*minimal Log reduction*) erfolgte im Vergleich zur unbehandelten Kontrollprobe.

Projektergebnisse

Die Behandlung der Proben mit UV-C Strahlung führte zu einer Reduktion der Viruslast. Die Ergebnisse der Messungen mit den entsprechenden Geräten sind nachfolgend in Tabelle 1 und 2 aufgeführt.

UVA Cube 100:

Exposure time	TCID ₅₀ /mL	% Reduction	Log10 Reduction
control	3.2×10^4	-	-
2 sec	1×10^1	99.97	3.5
4 sec	3.2×10^0	100	4.0
15 sec	3.2×10^0	100	4.0
35 sec	3.2×10^0	100	4.0
210 sec	3.2×10^0	100	4.0

Tabelle 1: Reduktion der Viruslast von SARS-CoV-2 nach Behandlung mit UV-C Strahlung (UVA Cube 100) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer (Titration).

LED CUBE 100 IC:

Exposure time	TCID ₅₀ /mL	% Reduction	Log10 Reduction
---------------	------------------------	-------------	-----------------

control	5.4×10^4	-	-
0.5 sec	1.1×10^3	98	1.7
1.0 sec	6.3×10^0	100	3.9
3.5 sec	3.2×10^0	100	4.0

Tabelle 2: Reduktion der Viruslast von SARS-CoV-2 nach Behandlung mit UV-C Strahlung (LED CUBE 100 IC) in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer (Titration).

In Abhängigkeit der Bestrahlungsdauer konnten eine Reduktion der Viruslast durch UV-C Strahlung bei einer festen, definierten Strahlendosis und einen festen Abstand zur Probe beobachtet werden. Dabei konnte unter Verwendung des LED Cube 100 IC bei einer Bestrahlungsdauer von einer Sekunde bereits eine Reduktion der Viruslast um vier Log-Stufen erreicht werden, während bei der Nutzung des UVA Cube mindestens 4 Sekunden nötig waren. Die Wirksamkeit für beide Strahlenquellen zur Inaktivierung von SARS-CoV-2 auf Oberflächen konnte mit Hilfe der durchgeführten Experimente nachgewiesen werden.

Bemerkung

Die UV-Strahler verbleiben bis auf weiteres in der S3 Anlage, bis (i) dieses dekontaminiert wird und eine Entnahme der Geräte möglich ist oder (ii) auf Wunsch der Firma Dr. Hönle AG die Dekontamination der Geräte durch Autoklavieren ein Ausbringen der UV-Strahler ermöglicht. Die Firma Dr. Hönle AG wurde vor Beginn der Arbeiten darauf hingewiesen, dass das Ausbringen der Geräte aus der S3-Anlage nur nach adäquater Dekontamination dieser erfolgen kann und dieser Schritt zu einer ggf. (vollständigen) Schädigung der Sache führen kann.

Ort und Datum: <i>Frankfurt, 10.07.20</i>	Institut für Medizinische Virologie Unterschrift <i>Sandra Ciesek</i> Zentrum der Hygiene Universitätsklinikum Frankfurt Direktorin: Prof. Dr. med. Sandra Ciesek Paul-Ehrlich-Str. 40 D-60396 Frankfurt am Main Tel. +49 (0)69 6301 5219 - Fax +49 (0)69 6301 6477 E-Mail: Sandra.Ciesek@kgu.de
--	---

Anlage

Versuchsreihe zur Inaktivierung von SARS-CoV2 durch UV Strahlung

Umfang der Versuchsreihe

- Durchführung der Versuchsreihe nach unten stehendem Probenplan
- Das Institut für Medizinische Virologie stellt zur Durchführung der Versuchsreihe benötigte Laboreinrichtungen, Personal, Gerätschaften und Verbrauchsmaterialien zur Verfügung
- Kostenlose Beistellung von 2 UV Bestrahlungskammern. (Die Geräte gehen kostenlos in den Besitz des Universitätsklinikum Frankfurt über, Keine Rückforderungsansprüche können geltend gemacht werden)

UVC LED Bestrahlungskammer

Einstellung #	Abstand [mm]	Zeit [s]	Leistungseinstellung [%]	Anzahl Replikate	Referenzproben
1	40	0.5	30	3	3
2	40	1.0	30	3	3
3	40	3.5	30	3	3
				Summe: 12	Summe: 12

Niederdruck UV Bestrahlungskammer

Einstellung #	Abstand [mm]	Zeit [s]	Leistungseinstellung [%]	Anzahl Replikate	Referenzproben
1	20	15	100	3	3
2	20	35	100	3	3
3	20	210	100	3	3
				Summe: 12	Summe: 12

Gesamtzahl Proben: 48

Erweiterung Umfang der Versuchsreihe:

Niederdruck
Bestrahlungskammer

UV

Einstellung #	Abstand [mm]	Zeit [s]	Leistungseinstellung [%]	Anzahl Replikate	Referenzproben
1	20	2	100	3	3
2	20	4	100	3	3

Summe: 6

Summe: 6

Gesamtzahl Proben: 12