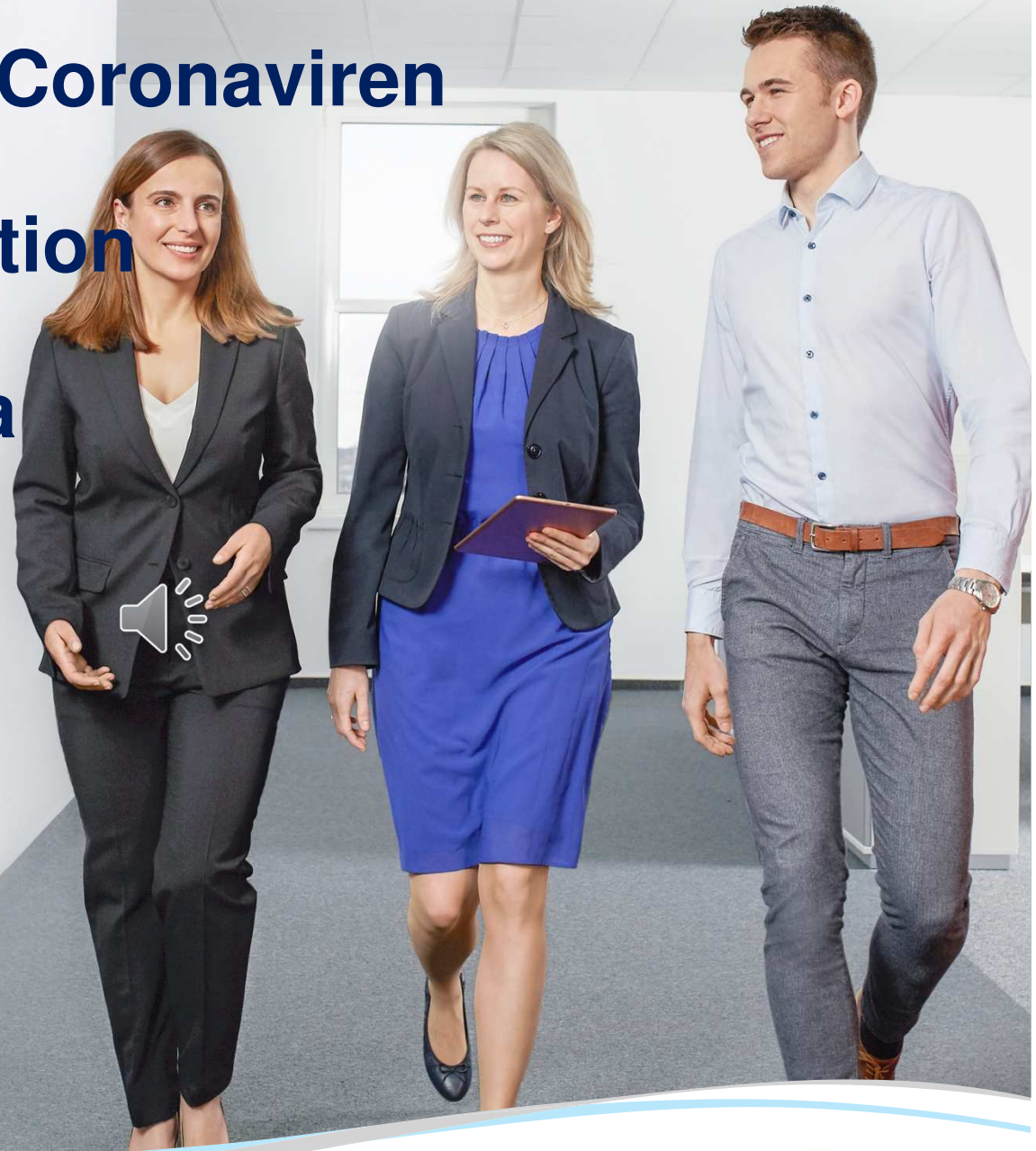


Inaktivierung von Coronaviren (a) im Alltag (b) bei der Produktion von Arzneimitteln aus Humanplasma



Pathogen Safety Group
Biotest AG
Night of Science 2020

Allgemeines

Zum Nachschlagen, für Referenzen etc.:

- Die Folien werden auch als pdf bereitgestellt

Sprecher im mp4 file (in alphabetischer Reihenfolge):

- Marcel Asper
- Claudia Beckers
- Sebastian Lülfi
- Gerhard Poelsler
- Florian Zirkel



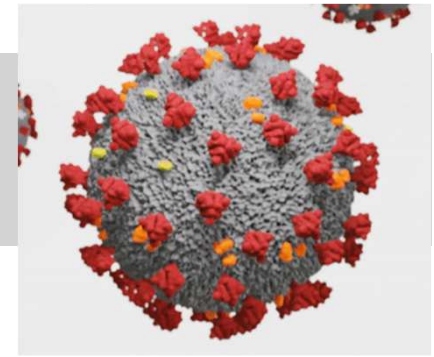
Alle Biotest AG, Pathogen Safety Group

Teil A

Stabilität und Inaktivierung von Coronaviren im Alltag



(Ortho-) Coronaviren



Eigenschaften:

- Lipid-umhüllt (!), ss+ RNA, groß (~100 nm), „spikes“ (20 nm)
- Wirtsspektrum: Amphibien, Vögel, Säugetiere

Taxonomie (vereinfacht):

- Coronaviridae
 - Orthocoronavirinae
 - Alphacoronavirus
 - **Human coronavirus 229E, Human coronavirus NL63**
 - Betacoronavirus
 - **Human coronavirus OC43, Human coronavirus HKU1**
 - **Middle East respiratory syndrome-related coronavirus (MERS-CoV)**
 - **Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV)**
 - **Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)**



Gewöhnliche
Erkältung

Schwere
Erkrankung

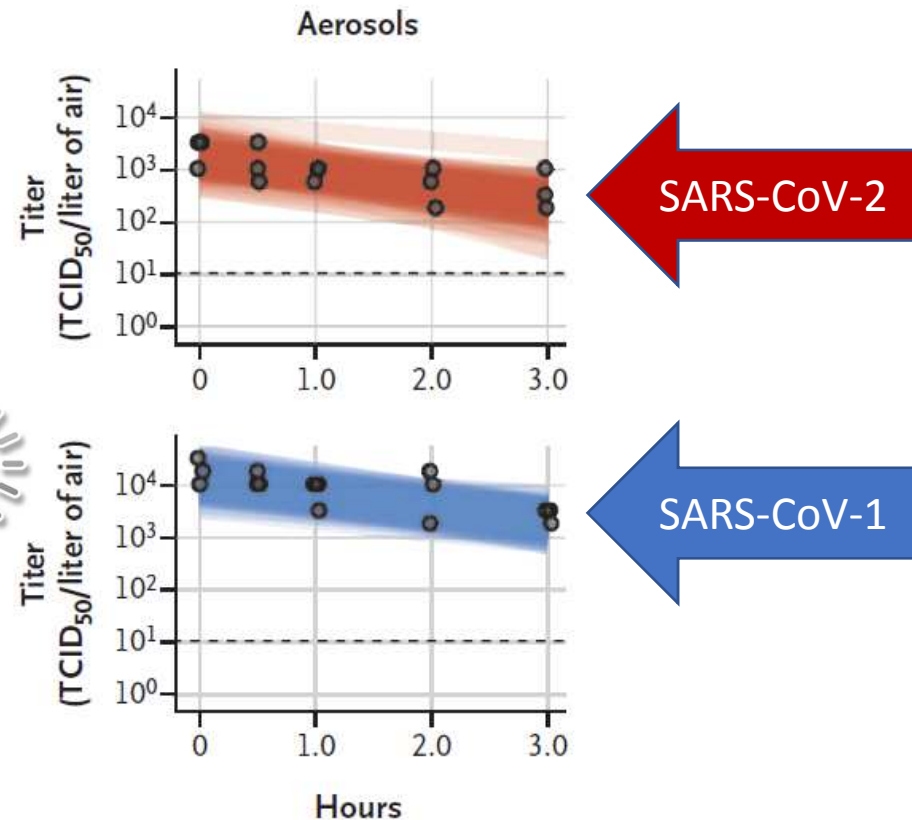
Bild (coronavirus): By AustroHungarian1867 - Own work, CC BY-SA 4.0,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=89279187>

Umweltstabilität von Coronaviren - Relevanz

- Aerosole: Stabilität ist relevant → Infektionsgefahr steigt mit Dauer des gemeinsamen Aufenthalts in geschlossenen Räumen
- Oberflächen: Relevanz ?
 - Bevorzugter Infektionsweg ist über Aerosole
 - Infektion über Oberflächen:
 - Theoretisch möglich über Berühren von Mund, Nase, Schleimhäute nach Kontakt mit infizierter Oberfläche
 - Praktisch weniger wahrscheinlich
 - Aber: bei vielen Infektionen ist der genaue Infektionsweg nicht bekannt!

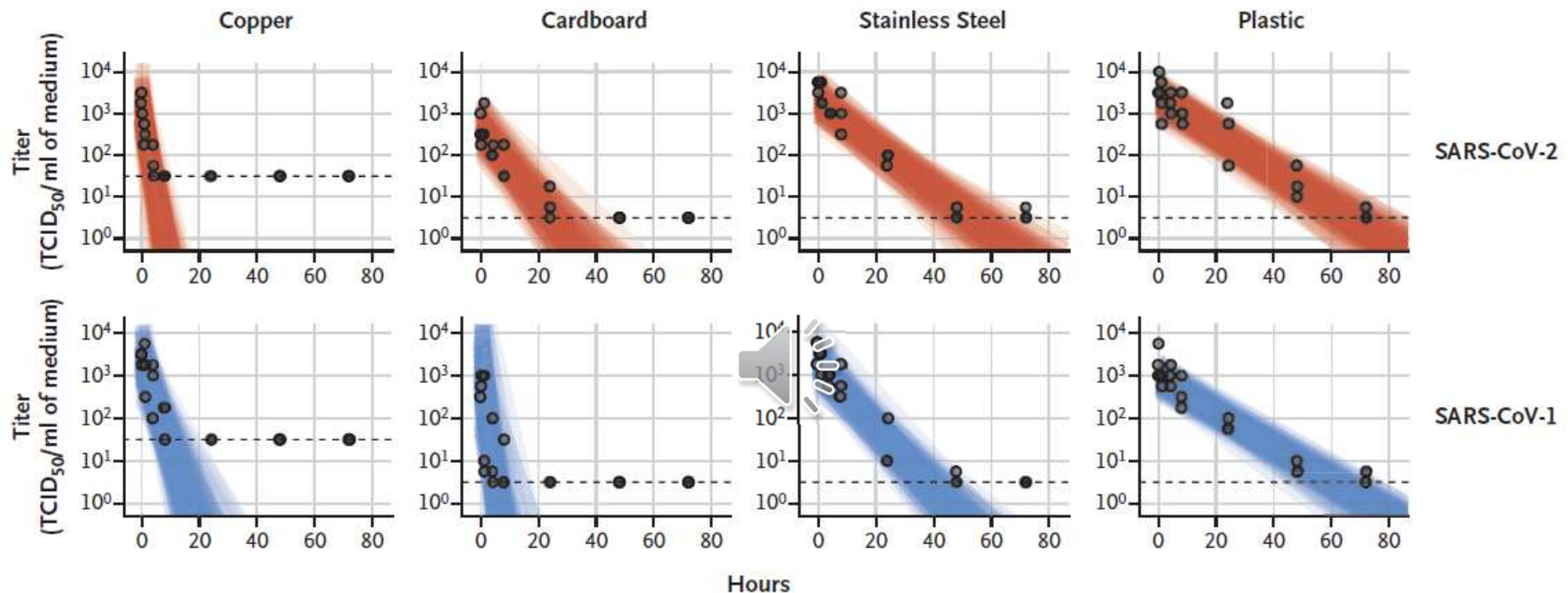
Stabilität von Coronaviren in der Umwelt - Aerosole

- Halbwertszeiten:
 - SARS-CoV-2: 1.1 h
(95% C.I.: 0.64 – 2.64 h)
 - SARS-CoV-1: 1.2 h
(95% C.I.: 0.78 – 2.43 h)
 - Unterschiede zwischen den beiden Coronaviren vernachlässigbar
- CoV in Aerosolen bemerkenswert stabil!



van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1 (Correspondence). *N Engl J Med.* 2020; DOI: 10.1056/NEJMc2004973

Stabilität von Coronaviren in der Umwelt - Oberflächen



- Halbwertszeiten: von 1-2 h auf Kupfer bis zu 7-8 h auf Kunststoffoberflächen
- SARS-CoV-2 auf Karton deutlich stabiler als SARS-CoV-1
- Coronaviren können also mehrere Tage auf Oberflächen infektiös bleiben!

van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1 (Correspondence). *N Engl J Med.* 2020; DOI: 10.1056/NEJMc2004973

Stabilität von Coronaviren auf Gesichtsmasken (eigene Daten)



- Coronavirus „modelliert“ durch andere lipid-umhüllte Viren (PRV, BVDV, EAV)
- Es wurden typische Einmal-Masken verwendet (Symbolfoto)
- Direkt nach Auftragen war die Viruslast noch vollständig extrahierbar
- Nach Auftrocknen und ca. 1 h Standzeit waren nur mehr ca. 0.1% bis 2% der aufgetragenen Viruslast extrahierbar

G. Poelsler, S. LülF, F. Zirkel, J. Schüttrumpf and M. Asper, Effective inactivation of lipid-enveloped viruses (PRV, BVDV, EAV) on surgical face masks with clear, alcoholic spirits (Doppelkorn 38% and Vodka 40%, v/v), submitted

Inaktivierung von Coronaviren - allgemein

- Coronavirus wie **alle lipid-umhüllten** Viren leicht zu inaktivieren
 - Grund: Lipidhülle weniger robust als ein Proteincapsid

Methoden zur Inaktivierung/Entfernung von lipid-umhüllten Viren (im Alltag relevante **markiert**)

- Physikalische: **Hitze**, Bestrahlung (UV-C, Gammastrahlung), Entfernung (Nanofiltration)
- Chemische: **Detergenzien**, **Alkohol**, Peroxyverbindungen, andere aggressive Chemikalien (Hypochlorit, NaOH, Säuren, Ethylenoxid, beta-Propiolakton etc.)

Inaktivierung von Coronaviren – Hitze

Effektive Inaktivierung von Coronavirus durch Hitze (wässrige Lösung, stabilisiert durch Proteine):

- 60°C, ≥30 Minuten
- 65°C, ≥15 Minuten
- 80°C-90°C, 1-3 Minuten

(konservative Schätzung aufgrund mehrerer Publikationen)

H. F. Rabenau, J. Cinatl, B. Morgenstern, G. Bauer, W. Preiser, H. W. Doerr, Stability and inactivation of SARS coronavirus, Medical Microbiology and Immunology (2005)

C. Batéjat, Q. Grassin, JC Manuguerra, I. Leclercq, Heat inactivation of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, submitted, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.01.067769>

G. Kampf, A. Voss, S Scheithauer, Inactivation of coronaviruses by heat. https://www.researchgate.net/publication/340100778_Inactivation_of_coronaviruses_by_heat

Inaktivierung von Coronaviren – Detergenzien

„Haushaltsreiniger“ verdünnt 1:50 oder 1:100 inaktiviert bei Raumtemperatur SARS-CoV-1 innerhalb von 5 Minuten bis unter das Detektionslimit*

- Aufgrund der ohnedies schwammigen Angaben auf vielen Haushaltsreiniger nicht eindeutig auf in Deutschland verfügbare Reiniger umsetzbar.

→ Empfohlen für wahrscheinlich effektive CoV Inaktivierung: Detergenzien plus Wärme/Hitze (z.B. normaler Waschmittelgang bei $\geq 40^{\circ}\text{C}$)

* Mary Y. Y. Lai, Peter K. C. Cheng, Wilina W. L. Lim, Survival of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus, Clinical Infectious Diseases, Volume 41, Issue 7, 1 October 2005, Pages e67–e71, <https://doi.org/10.1086/433186>

Inaktivierung von Coronaviren – Alkohol (1) (eigene Daten)

Versuche mit 38% und 40% Ethanol (klare Spirituosen)

- Coronavirus „modelliert“ durch andere lipid-umhüllte Viren (PRV, BVDV, EAV)
 - 38%/40% Ethanol + 1% Virussuspension bei Raumtemperatur: Inaktivierung unter das Detektionslimit nach 30 Sekunden (1. Probenziehungszeitpunkt)
 - 38%/40% Ethanol + auf Masken aufgebrauchte Virussuspension bei Raumtemperatur: Inaktivierung unter das Detektionslimit nach 15 Minuten (1. Probenziehungszeitpunkt)

G. Poelsler, S. Lülfi, F. Zirkel, J. Schüttrumpf and M. Asper, Effective inactivation of lipid-enveloped viruses (PRV, BVDV, EAV) on surgical face masks with clear, alcoholic spirits (Doppelkorn 38% and Vodka 40%, v/v), submitted

Inaktivierung von Coronaviren – Alkohol (2)

Schlussfolgerungen

- Lipid-umhüllte Viren sind durch im Handel erhältliche Spirituosen gut inaktivierbar
- Sind 38%/40% Spirituosen ein generelles Desinfektionsmittel?
→ NEIN
 - 38%/40% Ethanol wirkt nicht gegen robustere Erreger (auch in Coronaviruszeiten gibt es noch andere Bedrohungen, alkoholbasierte Desinfektionsmittel haben ca. die doppelte Ethanolkonzentration*)
 - Nicht geeignet zur Flächen- und Händebehandlung aufgrund der schnellen Verdampfung
 - Aber: Einlegen von Masken in 38%/40% Ethanol sollte funktionieren – gegen Coronavirus

* Händedesinfektionsmittel nach WHO: 80% Ethanol bzw. 75% Isopropanol,
https://www.who.int/gpsc/5may/Guide_to_Local_Production.pdf?ua=1

Teil B

Inaktivierung von Coronaviren bei der Produktion von biologischen Arzneimitteln aus Humanplasma



SARS-CoV-2 – ein Risiko für Humanplasma?

- SARS-CoV-2 wird bei Infizierten nicht verlässlich und auch nur in geringen Konzentrationen in der Blutbahn gefunden.
➔ Infektionsnachweis erfolgt durch Abstrich aus den oberen bzw. tiefen Atemwegen* und NICHT aus Blutprobe
- Risiko für Blut bzw. Plasma ? **
 - „Respiratory viruses, in general, are not known to be transmitted by blood transfusion. There have been no reported cases of transfusion-transmitted coronavirus, including SARS-CoV-2, worldwide.“
 - „FDA does not recommend using laboratory tests to screen asymptomatic blood donors.“

* z.B.: https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Vorl_Testung_nCoV.html

** FDA (U.S. Gesundheitsbehörde) Statements von: FDA, Updated Information for Blood Establishments Regarding the Novel Coronavirus (COVID-19) Outbreak, <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/updated-information-blood-establishments-regarding-novel-coronavirus-covid-19-outbreak>

Wirken Virusinaktivierungsmethoden gegen SARS-CoV-2?

- Standardmethoden gegen lipid-umhüllte Viren bei der Produktion von Plasmaprodukten wirken auch gegen SARS-CoV-2*
 - Solvens/Detergens (S/D) Verfahren
 - Nanofiltration
 - Caprylsäurebehandlung
 - Alkoholfraktionierung
 - Hitzebehandlung (Pasteurisierung)
- Wieviele solcher Schritte kommen bei einem Plasmaprodukt zur Anwendung?
 - Mindestens zwei – mit insgesamt mindestens 100-millionenfacher Risikoreduktion nach EU Vorgaben**



* PPTA, New Coronavirus (SARS-CoV-2) and the Safety Margins of Plasma Protein Therapies, <https://www.pptaglobal.org/media-and-information/ppta-statements/1055-2019-novel-coronavirus-2019-ncov-and-plasma-protein-therapies>

** EU Definition von effektiver Virusreduktion: mindestens 10 000 – fach, zwei Schritte gefordert nach EMA/CHMP/BWP/706271/2010, <https://www.ema.europa.eu/en/plasma-derived-medicinal-products>

Zusammenfassung Coronaviren und Plasmaproducte

- Auch bei hoher Durchseuchungsrate werden Coronaviren nach heutigem Wissen nicht in Plasmapools vorkommen
 - Coronaviren werden durch mindestens zwei Herstellschritte bei jedem Produkt verlässlich inaktiviert bzw. entfernt
- ➔ Plasmaproducte sind vor Coronavirus sicher – unsere Alltagsumgebung ist es derzeit leider nicht.





Many thanks



Biotest AG
Landsteinerstraße 5
63303 Dreieich
GERMANY
www.biotest.de