

DR. JOCHEN STEINMANN

Wiss. techn. Leiter der
MikroLab GmbH

D-28259 Bremen
Norderoog 2

Tel.: +49 (421) 27819102
Fax: +49 (421) 2760283
E-Mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

24.08.2004
Dr. St/sbe

Laboratorium Dr. H.D. Deppe
Hooghe Weg 35

47906 Kempen

Vacciniavirus-Wirksamkeit von ENDO STAR im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C

UNTERSUCHUNGSBERICHT

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR des Laboratoriums Dr. H.D. Deppe wurde gemäß Auftrag auf seine virusinaktivierenden Eigenschaften gegenüber dem Vacciniavirus Stamm Elstree im quantitativen Suspensionsversuch geprüft. Die Prüfung erfolgte nach der Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes (BGA, jetzt Robert Koch-Institut) und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren (1,2). Hierbei handelt es sich um Suspensionsversuche, bei denen die Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln unter definierten Bedingungen wie Präparate-Konzentration, Einwirkzeit, Temperatur und Eiweißbelastung, ermittelt werden kann.

Die Prüfrichtlinie des BGA und der DVV existiert seit 1982 und hat sich in der Vergangenheit als eine gut reproduzierbare Methode bewährt. Nach dieser Richtlinie und auch nach dem europäischen Entwurf (prEN 14476:2003) einer phase 2/step 1-Viruzidieprüfung (3) wird ein chemisches Desinfektionsmittel immer dann als viruzid angesehen, wenn eine Titerreduktion von vier \log_{10} -Stufen (Inaktivierung $\geq 99,99\%$) darstellbar ist.

Die Ergebnisse dieser Suspensionsversuche führen zu konkreten Anwendungsempfehlungen, doch sollte beachtet werden, dass ohne entsprechende praxisnahe Versuche die Resultate lediglich eine viruzide Wirksamkeit in vitro demonstrieren.

1. Laboratorium

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

2. Identifizierung der Probe

Produktbezeichnung	ENDO STAR
Hersteller	Laboratorium Dr. H.D. Deppe
Chargennummer	2404046
Aussehen und Geruch	klare, farblose Flüssigkeit produktspezifisch
pH-Wert (Glaselektrode)	unverdünnt: 10,1 (20°C) 1,0%: 8,9 (20°C)
Lieferdatum	05.05.2004
Lagerbedingungen	Raumtemperatur, dunkel (Aufbewahrungsbereich nicht frei zugänglich)
Aktive Substanz(en) und ihre Konzentration(en) in 100 g	10,0 g Alkyldimethylammoniummethosulfat 2,0 g Polyhexamethylenbiguanid 3,6 g Cocospropylendiaminguanidiumdiacetat

3. Prüfbedingungen

Zeitraum der Prüfung	02.07.2004 - 17.08.2004
Prüftemperatur	20°C ± 1°C
Produktprüfkonzentration	1,0% und 2,0%
Einwirkzeiten	15, 30 und 60 Minuten
Eiweißbelastung	0,2% Serumalbumin (BGA/DVV) 10,0% foetales Kälberserum (BGA/DVV)
Verdünnungsmittel	Aqua bidest.
Virusstamm	Vacciniavirus Stamm Elstree

4. Material und Methoden

4.1 Herstellung der Virussuspension

Das Vacciniavirus Stamm Elstree stammte vom Institut für Med. Virologie und Immunologie der Universität Essen. Das Virus war vor den Inaktivierungsversuchen 10 mal in GMK AH-1 Zellkulturen (green monkey kidney, permanente Affennierenzelllinie) und dreimal in HeLa-Zellen (menschliches Zervix-Karzinom) passagiert worden.

Zur Herstellung der Virussuspension wurden Vero-Zellen (african green monkey kidney cells = permanente Affennierenzellkultur), die in 75 cm² Zellkulturflaschen (Nunc GmbH & Co. KG, D-65203 Wiesbaden) mit Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Cambrex Bio Science Verviers s.p.r.l., B-4800 Verviers, Belgien) unter Zusatz von L-Glutamin, nicht essentiellen Aminosäuren, Natriumpyruvat und foetalem Kälberserum (Biochrom AG, D-12247 Berlin) gehalten wurden, mit dem Vacciniavirus beimpft. Nach Ausbildung des cytopathischen Effekts erfolgte ein dreifacher Einfrier-/Auftauvorgang und eine niedertourige Zentrifugation bei 800 x g, um den Zelldetritus zu entfernen. Der Überstand wurde aliquotiert und bei -80°C eingefroren.

4.2 Inaktivierungsansätze

Die Ansätze wurden entsprechend der Richtlinie des BGA und der DVV durchgeführt. Acht Volumenteile des Desinfektionsmittels in der 1,25fachen der gewünschten Konzentration wurden mit einem Volumenteil Virussuspension und einem Volumenteil Aqua bidest. vermischt. Bei den Versuchen mit Eiweißbelastung wurde anstelle von Aqua bidest. ein Volumenteil einer 2%igen Rinderalbumin-Lösung (bovine serum albumin = BSA, Cohn Fraktion V, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-82024 Taufkirchen) bzw. ein Volumenteil foetales Kälberserum (FKS) zugegeben.

Eine Kontrolle bestand aus einem Volumenteil Virussuspension, vier Volumenteilen PBS und fünf Volumenteilen einer 1,4%igen Formaldehyd-Lösung. Die Bestimmung der Formaldehyd-Konzentration wurde mit der Hydroxylammoniumchlorid-Methode vorgenommen. Ferner sind Kontrollansätze für die Bestimmung des Virustiters nach der längsten der geprüften Einwirkzeiten mitgeführt worden.

Die Inaktivierungsversuche wurden in geschlossenen Plastikröhrchen (Sarstedt AG, D-51588 Nümbrecht) in einem Wasserbad bei 20°C durchgeführt. Nach den einzelnen Einwirkzeiten wurden Teilmengen entnommen, und die Restinfektiosität ist bestimmt worden.

4.3 Bestimmung der Infektiosität

Die Bestimmung der Infektiosität geschah mit Hilfe der Endverdünnungstitration im Mikroverfahren. Dabei wurden die Stichproben, die nach ihrer Entnahme mit eiskaltem DMEM und 1% Kälberserum in ganzzahligen Potenzen von 10 verdünnt waren, jeweils zu 100 µL in acht Kavitäten einer sterilen Polystyrolplatte (Nunc GmbH & Co. KG) überführt. Dann erfolgte die Zugabe von 100 µL einer frisch trypsinisierten Vero-Zellkultur, die so eingestellt war, dass sich ca. $2,7 \times 10^4$ Zellen pro Kavität befanden. Die Inkubation erfolgte bei 37°C im CO₂-Brutschrank (5% CO₂-Gehalt). Nach acht Tagen wurde abgelesen, und die Berechnung des Infektionstiters ($\log_{10} ID_{50}$) ist nach der Methode von Spearman (4) und Kärber (5) vorgenommen worden.

4.4 Bestimmung der Cytotoxizität

Für die Bestimmung der Cytotoxizität des Desinfektionsmittels wurden zwei Volumenteile PBS mit acht Volumenteilen des Desinfektionsmittels bzw. der Desinfektionsmittellösung gemischt und nach seriellen Verdünnung in die Mikrotiter-Platte überführt. In Ergänzung der Richtlinie erfolgte diese Kontrolle ebenfalls mit den interferierenden Substanzen.

Die Berechnung der cytotoxischen Dosis geschah als $\log_{10} CD_{50}/mL$ (in Analogie zum ID_{50} -Wert).

4.5 Berechnung der viruziden Wirkung

Die Beurteilung der viruziden Wirkung des zu prüfenden Desinfektionsmittels erfolgte durch Berechnung des Titerabfalls gegenüber der jeweils parallel durchgeführten Kontrolltitration ohne Desinfektionsmittel. Die Differenz wird als Reduktionsfaktor (RF) angegeben.

5. Ergebnisse

Parallel zu den Inaktivierungsversuchen wurde die Cytotoxizität von ENDO STAR (1,0% und 2,0%) und der 0,7%igen Formaldehyd-Lösung ermittelt. Die als Kontrolle mitgeführte Formaldehyd-Lösung wirkte toxisch auf die eingesetzten Vero-Zellen bei Anwendung der 0,1%igen Verdünnung (1 : 1000). Dies bedeutet rechnerisch einen \log_{10} CD_{50} /mL-Wert (in Analogie zum ID_{50} -Wert) von 4,5 (Tabelle 1).

Demgegenüber ergab sich bei der Überprüfung des Instrumentendesinfektionsmittels ENDO STAR als 1,0% und 2,0%ige Lösung eine \log_{10} CD_{50} /mL von 3,5. Damit ist in der 1 : 100-Verdünnung eine Cytotoxizität nachgewiesen worden.

Diese Versuche zur Ermittlung der Cytotoxizität sind unbedingt erforderlich, um auf diese Weise die untere Nachweisbarkeitsschwelle für nichtinaktiviertes Vacciniavirus zu determinieren.

Die Untersuchungsergebnisse der Inaktivierungsversuche finden sich in der Tabellen 2 und 3 (Rohdaten siehe Appendix). Auf eine graphische Darstellung der Resultate ist aufgrund der weitgehend fehlenden Kinetik des Inaktivierungsverhaltens des Instrumentendesinfektionsmittels ENDO STAR verzichtet worden.

Aus der Tabelle 2 ist ersichtlich, dass die 0,7%ige Formaldehyd-Lösung den Vacciniavirus-Titer nach fünf Minuten Einwirkzeit um $\geq 3,00$ \log_{10} -Stufen reduzierte. Nach 15, 30 und 60 Minuten betrug der Reduktionsfaktor $\geq 3,37$.

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR wurde als 1,0% und 2,0%ige Lösung eingesetzt. Die Einwirkzeiten betragen 15, 30 und 60 Minuten.

Die Untersuchungsergebnisse finden sich in den Tabellen 2 und 3. Daraus ist ersichtlich, dass das untersuchte Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR als 1,0% und 2,0%ige Lösung eine ausgeprägte Viruzidie gegenüber dem Prüf-virus aufwies. So konnte im Ansatz ohne Belastung und in Gegenwart von BSA bei der Überprüfung der 1,0%igen Lösung nach 15 Minuten Einwirkzeit kein Virus mehr detektiert werden. Die Reduktionsfaktoren betragen $\geq 4,37$ bzw. $\geq 4,00$. In Gegenwart von FKS mußte die Einwirkzeit 60 Minuten betragen, um den initialen Virustiter entscheidend zu reduzieren.

Deshalb ist unter FKS-Belastung zusätzlich die 2,0%ige Lösung untersucht worden. Bei dieser Konzentration war eine Reduktion von $\geq 4,12$ \log_{10} -Stufen

nach 15 Minuten Einwirkzeit nachweisbar. Dies bedeutet eine Inaktivierung von $\geq 99,99\%$ und damit eine Vacciniavirus-Wirksamkeit. Bekanntlich wird in der Richtlinie des BGA und der DVV immer dann von einer Virus-Wirksamkeit ausgegangen, wenn eine Titerreduktion von gleich oder größer vier \log_{10} -Stufen (Inaktivierung $\geq 99,99\%$) darstellbar ist.



Dr. J. Steinmann

DR. JOCHEN STEINMANN

Wiss. techn. Leiter der
MikroLab GmbH

D-28259 Bremen
Norderoog 2

Tel.: +49 (421) 27819102
Fax: +49 (421) 2760283
E-Mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

24.08.2004
Dr. St/sbe

Laboratorium Dr. H.D. Deppe
Hooghe Weg 35

47906 Kempen

Vacciniavirus-Wirksamkeit von ENDO STAR im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C

GUTACHTERLICHE BEURTEILUNG

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR des Laboratoriums Dr. H.D. Deppe wurde gemäß Auftrag auf seine viruziden Eigenschaften gegenüber dem Vacciniavirus Stamm Elstree nach der Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes (BGA, jetzt Robert Koch-Institut) und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) untersucht.

In der Richtlinie des BGA und der DVV wird dann von einer Virus-Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels im Suspensionstest ausgegangen, wenn nach einer bestimmten Einwirkzeit eine Reduktion des initialen Virustiters von vier \log_{10} -Stufen (Inaktivierung $\geq 99,99\%$) erfolgt ist.

Das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR wurde als 1,0% und 2,0%ige Lösung eingesetzt. Die Einwirkzeiten betragen 15, 30 und 60 Minuten. Nach 15 Minuten (1,0% ohne und mit BSA-Belastung; 2,0% FKS) konnte kein Virus mehr detektiert werden, und die Reduktion des Virustiters erreichte vier \log_{10} -Stufen. Nach diesen Untersuchungsergebnissen kann deshalb empfohlen werden, das Instrumentendesinfektionsmittel ENDO STAR zur Inaktivierung des Vacciniavirus Stamm Elstree wie folgt einzusetzen:

ohne Belastung	1,0%	15 Min.
mit Belastung	1,0%	60 Min.
	2,0%	15 Min.


Dr. J. Steinmann

DR. JOCHEN STEINMANN

Wiss. techn. Leiter der
MikroLab GmbH

D-28259 Bremen
Norderoog 2

Tel.: +49 (421) 27819102
Fax: +49 (421) 2760283
E-Mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

2004-08-24
Dr. St/sbe

Laboratorium Dr. H.D. Deppe
Hooghe Weg 35

47906 Kempen

vacciniavirus efficacy of ENDO STAR in a quantitative suspension test at 20°C

EXPERT'S INVESTIGATION REPORT

The virucidal efficacy of the instrument disinfectant ENDO STAR from Laboratorium Dr. H.D. Deppe against vacciniavirus strain Elstree was investigated by a quantitative suspension test published as a guideline of the Bundesgesundheitsamt (BGA, now Robert Koch-Institut) and the Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV, German Association for the Control of Virus Diseases). According to this suspension test, a disinfectant or a disinfectant solution at a particular concentration is considered as having virucidal efficacy if within the recommended exposure period the titre is reduced by 4 logs₁₀.

ENDO STAR was examined as a 1.0% and 2.0% solution. The exposure times were 15, 30 and 60 minutes. After an exposure time of 15 minutes (1.0% without and with BSA load; 2.0% FCS) no virus could be detected and virus reduction exceeded 4 log₁₀-steps. Therefore, it can be recommended to use the instrument disinfectant ENDO STAR for the inactivation of vacciniavirus as follows:

without soil load	1.0%	15 min.
with soil load	1.0%	60 min.
	2.0%	15 min.


Dr. J. Steinmann

Literatur

1. Richtlinien des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren.
Bundesgesundheitsblatt 25, 1982, 397-398
2. Kommentar zur Richtlinie des Bundesgesundheitsamtes und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren.
Bundesgesundheitsblatt 26, 1983, 413-414
3. prEN 14476:2003 Chemical disinfectants and antiseptics - virucidal quantitative suspension test - Test method and requirements (phase 2, step 1)
4. Spearman, C.: The method of 'right or wrong cases' (constant stimuli) without Gauss's formulae.
Brit J Psychol 1908; 2: 227-242
5. Kärber, G.: Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche.
Arch Exp Path Pharmac 1931; 162: 480-487

Tabelle 1: Cytotoxizität von ENDO STAR (1,0% und 2,0%) und der 0,7%igen Formaldehyd-Lösung.

Konzentration	Belastung	Verdünnungsstufen				
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
1,0%	ohne	+	+	-	-	-
1,0%	0,2% BSA	+	+	-	-	-
1,0%	10,0% FKS	+	+	-	-	-
2,0%	ohne	+	+	-	-	-
2,0%	0,2% BSA	+	+	-	-	-
2,0%	10,0% FKS	+	+	-	-	-
Formaldehyd-Konzentration						
0,7%	ohne	+	+	+	-	-

Tabelle 2: Inaktivierung des Vacciniavirus Stamm Elstree durch ENDO STAR (1,0%) und Formaldehyd (0,7%) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C ± 1°C.

Produkt	Konz.	Belastung	log ₁₀ ID ₅₀ /mL nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.	
Prüpräparat	1,0%	ohne	≤ 3,50	≤ 3,50	≤ 3,50	n.d.	15 Min.
Prüpräparat	1,0%	0,2% BSA	≤ 3,50	≤ 3,50	≤ 3,50	n.d.	15 Min.
Prüpräparat	1,0%	10,0% FKS	5,50	5,50	≤ 4,25	n.d.	60 Min.
<hr/>							
Formaldehyd	0,7%	ohne	5 Min. ≤ 4,87	15 Min. ≤ 4,50	30 Min. ≤ 4,50	60 Min. ≤ 4,50	≥ 15 Min.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	ohne	n.d.	n.d.	n.d.	7,87	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	0,2% BSA	n.d.	n.d.	n.d.	7,50	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	8,37	n.a.

n.d. = nicht durchgeführt

n.a. = nicht anwendbar

Tabelle 3: Inaktivierung des Vacciniavirus Stamm Elstree durch ENDO STAR (2,0%) und Formaldehyd (0,7%) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C ± 1°C.

Produkt	Konz.	Belastung	log ₁₀ ID ₅₀ /mL nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	
Prüfpräparat	2,0%	ohne	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prüfpräparat	2,0%	0,2% BSA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prüfpräparat	2,0%	10,0% FKS	n.d.	≤ 3,50	≤ 3,50	≤ 3,50	15 Min.
<hr/>							
Formaldehyd	0,7%	ohne	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	
			≤ 4,87	≤ 4,50	≤ 4,50	≤ 4,50	≥ 15 Min.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	ohne	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	0,2% BSA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	7,62	n.a.

n.d. = nicht durchgeführt

n.a. = nicht anwendbar

Appendix Tabelle 1: Rohdaten für ENDO STAR (BGA/DVV)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (min)	Verdünnungen (log ₁₀)												
				1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Endo Star	1,0%	Aqua bidest.	15	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	
			30	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.
			60	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.
			120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			15	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.
			30	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.
	10,0%	10,0% FKS	60	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	
			120	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			15	CT	CT	4444	4444	4444	4433	4433	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.
			30	CT	CT	4444	4444	4444	4434	4434	0002	0000	0000	0000	0000	n.d.
			60	CT	CT	4444	4444	4444	4304	4304	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.
			120	n.d.	n.d.	0200	0200	0200	0200	0200	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.
Endo Star Cytotoxizität	1,0%	Aqua bidest.	n.a.	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.		
			n.a.	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.		
			n.a.	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.		
Viruskontrolle	n.a.	Aqua bidest.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4344	2000	0000	0000	
			4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4424	0304	0000	0000	
			4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4424	0000	0000	0000	
			4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4234	0000	0000	0000	
		10,0% FKS	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4034	0004	0000		
		10,0% FKS	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4044	0000	0000		

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

CT = cytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Wells einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 2: Rohdaten für ENDO STAR (BGAD/VV)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (min)	Verdünnungen (log ₁₀)																			
				1	2	3	4	5	6	7	8	9											
Endo Star	Aqua bidest.		5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.					
			15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.				
			30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			
			60	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			
	0,2% BSA	2,0%		5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			
				15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
				30	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
				60	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	10,0% FKS			5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
				15	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	
				30	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.
				60	n.d.	n.d.	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.
Endo Star Cytotoxizität	2,0%	0,2% BSA	n.a.	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.			
			n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5		
			n.a.	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.		
			n.a.	CT	CT	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	
Viruskontrolle	n.a.	10,0% FKS	n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444			
			n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444		
			n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	
			n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

CT = cytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Wells einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 3: Rohdaten für die Formaldehyd-Kontrolle

Produkt	Konzentration ₃₁₆	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (min)	Verdünnungen (log ₁₀)									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Formaldehyd	0,7% (m/V)	PBS	5	CT	CT	CT	0203 3000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.
			15	CT	CT	CT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.
			30	CT	CT	CT	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Formaldehyd Cytotoxizität	0,7% (m/V)	PBS	60	CT	CT	CT	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			n.a.	CT	CT	CT	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

CT = cytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Wells einer Mikrotiterplatte)