

**Erstellung einer Datenbank für Referenzsubstanzen
zur Viruzidietestung anhand von vorliegenden
Zertifizierungsverfahren, Gutachten und Prüfberichten**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Leonhard Carolus Rudolpho Beck

aus Bonn

2025

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Nico T. Mutters
2. Gutachterin: Prof. Dr. Anna Maria Eis-Hübinger

Tag der Mündlichen Prüfung: 22.08.2025

Aus der Klinik und Poliklinik für Hygiene und öffentliche Gesundheit / Public Health

In ewiger Dankbarkeit für meine Großeltern, meine Eltern und meinen Bruder

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	5
Abkürzungsverzeichnis	8
1. Einleitung	9
2. Material und Methoden	13
2.1 Material.....	13
2.2 Methoden	14
2.3 Einschränkungen der statistischen Auswertung	19
3. Ergebnisse	22
3.1 Vacciniavirus.....	22
3.1.1. Vaccinia-Virus in Abhängigkeit der Einwirkzeit	22
3.1.2. Vacciniavirus in Abhängigkeit der Prüflabore.....	24
3.1.3. Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme	28
3.1.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle	33
3.1.5. Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	34
3.2. Bovine Viral Diarrhoe Virus	34
3.2.1. Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Einwirkzeit.....	35
3.2.2. Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Prüflabore	37
3.2.3. Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme.....	40
3.2.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle	44
3.2.5. Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	45
3.3. Murines Parvovirus.....	45
3.3.1. Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit.....	45
3.3.2. Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Prüflabore	47
3.3.3. Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme.....	50
3.3.4. Erhebung der 95% Konfidenzintervallen	54

3.3.5.	Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	55
3.4.	Adenovirus	56
3.4.1.	Adenovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit.....	56
3.4.2.	Adenovirus in Abhängigkeit der Prüflabore	58
3.4.3.	Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme	61
3.4.4.	Erhebung der 95 % Konfidenzintervalle	65
3.4.5.	Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	66
3.5.	Murines Norovirus.....	67
3.5.1.	Murines Norovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit	67
3.5.2.	Murines Norovirus in Abhängigkeit der Prüflabore	69
3.5.3.	Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme	72
3.5.4.	Erhebung des 95% Konfidenzintervall.....	76
3.5.5.	Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	77
3.6.	Poliovirus.....	77
3.6.1.	Poliovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit	77
3.6.2.	Poliovirus in Abhängigkeit der Prüflabore	79
3.6.3.	Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme.....	82
3.6.4.	Erhebung der 95% Konfidenzintervalle	87
3.6.5.	Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	88
3.7.	Polyomavirus	88
3.7.1.	Polyomavirus in Abhängigkeit der Einwirkungszeit	89
3.7.2.	Polyomavirus in Abhängigkeit der Prüflabore	91
3.7.3.	Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme	93
3.7.4.	Erhebung der 95% Konfidenzintervalle	98
3.7.5.	Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	99
3.8.	Rotavirus	99
3.8.1.	Rotavirus in Abhängigkeit der Einwirkungszeit	99

3.8.2.	Rotavirus Prüflabor	100
3.8.3.	Rotavirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme	101
3.8.4.	Erhebung der 95% Konfidenzintervalle	101
3.8.5.	Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns	102
4.	Diskussion	103
4.1.	Aufstellung der Hypothesen	103
4.2.	Diskussion der Ergebnisse	103
4.2.1.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Vacciniavirus	103
4.3.2.	Diskussion der Ergebnisse zu Bovines Viral Diarrhoe Virus	106
4.3.3.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Murinen Parvovirus	108
4.3.4.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Adenovirus	110
4.3.5.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Murinen Norovirus	111
4.3.6.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Poliovirus	113
4.3.7.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Polyomavirus	114
4.3.8.	Diskussion der Ergebnisse zu dem Rotavirus	116
5.	Zusammenfassung	117
6.	Anhang	119
7.	Abbildungsverzeichnis	128
8.	Tabellenverzeichnis	131
9.	Literaturverzeichnis	133
10.	Erklärung zum Eigenanteil	137
11.	Danksagung	138

Abkürzungsverzeichnis

Adenovirus	Adenovirus Typ 5, Stamm Adenoid 75
Abb.	Abbildung
Bzw.	Beziehungsweise
BVDV	Bovine Viral Diarrhoe Virus Stamm NADL
CEN	Comité Européen de Normalisation
CPE	Zytopathologischer Effekt
DIN	Deutsches Institut für Normung
DVV	Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten
EN	Europäische Norm
HAV-Virus	Hepatitis A Virus
Murines Norovirus	Murines Norovirus, Stamm S99
MVA	Modified Vaccinia Ankara Virus
MVM	murines Parovirus, Minute Virus of Mice, Stamm Crawford
Poliovirus	Poliovirus Typ 1, LSc-2ab
Polyomavirus	Polyomavirus SV 40, Stamm 777
RKI	Robert Koch-Institut
RF	Reduktionsfaktor
RS	Reduktionsstufe
Tab.	Tabelle
TC	Technical Committee
TCID ₅₀	Tissue Culture Infectious Dose of 50%
u.U.	unter Umständen
VAH	Verbund für angewandte Hygiene
VVE	Vaccinia Virus Elstree

1. Einleitung

Mit dem Beginn der Covid-19 Pandemie entwickelte sich ein noch nie zuvor dagewesenes Interesse sowie eine deutlich gesteigerte Nachfrage an Desinfektionsmitteln – nicht nur im Kreise von Wissenschaft und Fachpersonal, sondern erstmals auch darüber hinaus in der Bevölkerung. Damit rückte auch die Frage nach der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegenüber Viren immer mehr in den Vordergrund. Die Testung auf Viruzidie erfolgt abhängig ihrer Anwendungsbereiche und wird in Hände-, Flächen-, Instrumenten-, und Wäschedesinfektion unterteilt (Roesch K.M., 2022).

Eine einheitliche Beurteilung der viruziden Eigenschaften von Desinfektionsmitteln war ab 1982 nach der Veröffentlichung der Richtlinien des ehemaligen Bundesgesundheitsamtes (heute RKI) und der DVV möglich. Diesen Wirkungsbereich „viruzid“ hat der Arbeitskreis Viruzidie im Jahre 2004 erweitert und zwei Wirkungsbereiche für die zu prüfenden Desinfektionsmittel eingeführt. Die Unterscheidung erfolgte aufgrund ihrer Wirksamkeit gegenüber behüllten Viren (begrenzt viruzid) und gegenüber unbehüllten Viren (viruzid) (Blümel et al., 2020; Eggers et al., 2020; Eggers und Enders, 2023).

Seit 2005 existierten zwei wesentliche Leitlinien, nach denen Testungen bei chemischen Desinfektionsmitteln auf ihre Wirksamkeit in der Humanmedizin durchgeführt wurden. Dies sind einerseits auf nationaler Ebene die Leitlinien der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten und des Robert Koch-Instituts (fortan DVV/RKI) und andererseits auf internationaler Ebene die Leitlinien, die durch die Arbeitsgruppe CEN/TC 216 des Comité Européen de Normalisation (CEN) verabschiedet werden (fortan DIN-EN). Bei beiden kamen über die Jahre hinweg stets Aktualisierungen sowie neue Ergänzungen hinzu (Enders und Eggers, 2023; Eggers, 2021; Exner und Gebel, 2022). Da eine Testung sämtlicher Viren enorm aufwändig wäre, beschränkte man sich für die Testdurchführungen auf einzelne Viren verschiedener Virusgruppen. Dabei galt es, mit den ausgewählten Viren die zuvor definierten Wirkungsbereiche begrenzt viruzid und viruzid abzudecken. So einigte man sich für die Testungen des begrenzt viruziden Wirkungsbereichs auf das Vacciniavirus Elstree (fortan VVE), welches später durch das Modified-Vaccinia-Ankara-Virus (fortan MVA) ersetzt wurde, da das Laborpersonal nicht

mehr routinemäßig gegen Pocken geimpft wird. Für oxidierende Wirkstoffe wurde in Deutschland das Bovine Viral Diarrhoe Virus (BVDV) vorgegeben.

Für den viruziden Bereich kamen Adenovirus Typ 5 (fortan Adenovirus), das murine Norovirus Stamm S99 Berlin (fortan murines Norovirus), das Poliovirus Typ 1, Stamm LSc-2ab (fortan Poliovirus) und in Deutschland das Polyomavirus SV 40 Stamm 777(fortan Polyomavirus) zum Einsatz (Blümel et al., 2020 und 2023; Eggers et al., 2020; Roesch K.M., 2022).

Für die meisten ausbruchsbedingten Infektionen sind Noroviren, Adenoviren und Rotaviren verantwortlich, weshalb ein gesteigertes Interesse bestand, die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln entsprechend gegen diese Viren zu testen. So führte der Arbeitskreis Viruzidie im Jahr 2014 neben der Unterteilung in begrenzt viruzid und viruzid, einen weiteren Wirkbereich mit der Bezeichnung „begrenzt viruzid Plus“ ein. Dieser neu geschaffene Wirkbereich umfasste die Testviren für eine begrenzte Viruzidie und wurde um Adenovirus, Norovirus und Rotavirus erweitert (Eggers, 2016; Eggers et al, 2017;). Diese drei Viren zählen zu zwar den unbehüllten Viren, sind aber auf Grund ihrer vergleichbar niedrigen hydrophilen Eigenschaften leichter durch Desinfektionsmittel zu inaktivieren als andere unbehüllte Viren wie das Polivirus oder das Minute Virus of Mice, Stamm Crawford (fortan Parvovirus) (Albrecht et al, 2020; Hübner et al, 2017; Eggers und Enders, 2023).

Die letzte Anpassung erfolgte in 2023 durch die Einführung des Wirkbereiches „viruzidPLUS“ in der Flächendesinfektion, bei der als Testvirus das murine Parvovirus (MVM, minute virus of mice; rodent protoparvovirus 1) eingesetzt wird, um die in der Gentherapie verwendeten Adenoassoziierten Vektorviren und das HAV-Virus abzudecken (Blümel et al. 2023).

Die chemischen Desinfektionsmittel werden nach nationalen (DVV/RKI) und europäischen Normen (DIN EN 14476) sowohl in quantitativen Suspensionsversuchen (Phase 2, Stufe 1 - z.B. DVV/RKI 2018 oder EN 14476) als auch in praxisnahen Tests (Phase 2, Stufe 2 – z.B. DVV 2012, EN 16777, EN 17111) auf ihre viruzide Wirksamkeit getestet (Albrecht et al, 2020).

Dabei werden die Testviren dem Desinfektionsmittel ausgesetzt und nach der Einwirkzeit die Infektiosität des Testvirus durch Überführen auf eine Zellkultur überprüft.

Für eine Zulassung oder Zertifizierung müssen beide Tests erfolgreich sein, wobei in der Regel das Ungünstigere der beiden Ergebnisse für die Beurteilung der Viruzidie herangezogen wird (Eggers et al 2017). Die Testung wird mit ausreichender viruzider Wirkung bewertet, sobald eine Titerreduktion von infektiösem Virus von mindestens 4 lg-Stufen erreicht wird (Eggers et al. 2021).

In den Suspensionsversuchen Phase 2, Stufe 1 werden die Viren mit dem chemischen Desinfektionsmittel in einer Suspension vermischt, wodurch in der Regel keine praxisnahen Prüfbedingungen erzielt werden. Daher besteht ein großes Interesse, für alle Anwendungsbereiche (Hände-, Flächen-, Instrumenten- und Wäschedesinfektion) auch praxisnahe Prüfmodelle zu etablieren, bei den das Virusinokulum auf der Haut oder geeigneten Carriern positioniert dem chemischen Desinfektionsmittel ausgesetzt werden (Nitsch-Osuch und Tarka 2021; Rabenau und Schwebke, 2012).

Für die Qualitätssicherung der Wirksamkeitstestung werden die verwendeten Viren zusätzlich intern in Prüflaboren mit Referenzsubstanzen getestet. Damit soll eine stetige und gleichbleibende Resistenz gegenüber bestimmten Wirkstoffen nachgewiesen werden. Als Referenzsubstanzen dienen z. B. Formaldehyd, Peressigsäure, Glutaraldehyd und Ethanol in Abhängigkeit der Wirkweise des zu testenden Produkts (Blümel et al., 2020). Mit der Ermittlung des 95 % Konfidenzintervalls wird gezeigt, dass der ermittelte Reduktionsfaktor mit hoher Wahrscheinlichkeit die „wahre Wirksamkeit“ widerspiegelt (Rabenau und Schwebke, 2008).

Eine Liste mit den 95% Konfidenzintervallen zu den Referenzwerten lag sowohl nach DIN EN 14476 als auch nach DVV/RKI Stand 2015 vor (Blümel et al, 2015; DIN EN 14476, 2015).

Ziel der Arbeit

Die Anforderungen an die Viruzidieprüfung haben sich im Laufe ihrer Zeit zwar stets weiterentwickelt, allerdings fehlt bis heute ein einheitliches Profil an viele wichtige Parameter, die möglicherweise Einfluss auf die Prüfergebnisse nehmen können.

Durch die Auswahl an unterschiedlichen Prüfmethoden und das Fehlen von klar definierten Anforderungen in den einzelnen Leitlinien ist eine Vereinheitlichung erschwert. So sind die Vorgaben in den Normen DIN EN 14476, 16777, 17025, 17111 und auch nach

DVV/RKI nur grob erstellt und lassen viel Spielraum hinsichtlich der Auswahl des Virus, des Prüflabors, der Zellkultur und der Art der Referenzsubstanzen zu.

Um zu überprüfen ob und in welcher Form diese Variabilität tatsächlich Einfluss auf den Reduktionsfaktor nimmt, formulieren wir unsere erste Hypothese, dass sowohl die Wahl des Prüflabors als auch die Wahl der Zellkultur einen signifikanten Einfluss auf die Virustiterreduktion bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 mit 0,7% Formaldehyd als Referenzsubstanz ausüben.

Des Weiteren gibt es bis heute kein klares Anforderungsprofil weder an die Herkunft, noch an die Haltung des Virus - es wird lediglich darauf verwiesen diese Daten zu dokumentieren. Zudem liegen bei jeweiligen Prüflaboren keine genau definierten Qualitätsanforderungen vor. Nach DIN EN 14476 werden zwar für die Labore einzelne Zelllinien für die jeweiligen Viren empfohlen, aber die Möglichkeit sich anderer gleichwertiger Zelllinien zu bedienen ist nicht weiter eingeschränkt (DIN EN 14476 2019). In den Leitlinien des DVV/RKI hingegen wird nur kurz erwähnt, dass die Viren in einer beliebigen Zellkultur oder in einem anderen geeigneten System herangezüchtet werden sollen (Blümel J. et al 2015). Ferner ist nach DIN EN 14476 die Wahl der Referenzsubstanz nicht eindeutig festgelegt, sondern auch hier wird einzig und allein nur eine Empfehlung ausgesprochen. Dadurch können auch andere geeignete Referenzsubstanzen für die Versuchsdurchführung eingesetzt werden (DIN EN 14476 2019). Das hat zur Konsequenz, dass die Referenzsubstanzen in unterschiedlich hohen Konzentrationen angewendet werden.

Nicht nur die oben als Beispiele aufgeführten Parameter dienen einer möglichen Einflussnahme auf das Testergebnis, sondern auch die anschließend unterschiedlichen Berechnungsverfahren für den TCID₅₀ Nachweis können den RF in seinem Wert beeinflussen. So wird nach DIN EN 14476 der TCID₅₀ mit dem Spearman-Käber Berechnungsverfahren festgestellt, während nach DVV/RKI auch mehrere andere Berechnungsverfahren möglich sind (Blümel J. et al 2015).

Ziel dieser Arbeit ist das Erstellen einer einheitlichen aktuellen Bemessungsgrundlage für die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln. Die Auswertung der Untersuchungsergebnisse bezüglich der Viruzidietestung der Referenzsubstanzen bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach Methode DVV/RKI und DIN EN 14476 sollte mögliche Einflussgrößen, wie die Wahl des Prüflabors oder der Zellkultur erkennbar machen und

die bereits bestehende Liste der 95% Konfidenzintervallen enger definieren. Wir postulieren daher eine zweite Hypothese, dass anhand der Datenbank, die auf der Grundlage, der beim Verbund für angewandte Hygiene eingereichten Gutachten und Prüfberichten erstellt worden ist, sich die von DVV/RKI und DIN herausgegebenen Referenzbereiche weiter präzisieren lassen.

Dies hätte für zukünftige Viruzidietestungen eine Festlegung neuer Richtwerte zur Folge, die eine Erhöhung des Qualitätsstandards sichern könnte. Darüber hinaus ist eine zuverlässige Beurteilung der viruziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln für alle medizinischen Einrichtungen von großem Interesse. Ein gewissenhafter Abgleich an die individuellen Hygieneanforderungen könnte zu einer verbesserten maximalen Sicherheit am Arbeitsplatz führen. Vor dem Hintergrund der 2020 ausgebrochenem SARS-CoV-2 Pandemie wäre dies ein wahrer Zugewinn.

2. Material und Methoden

2.1 Material

Für die Erstellung einer neuen Datenbank bezüglich der laborinternen Viruzidietestung mit Referenzsubstanz wurden alle vorliegenden Prüfberichte und Gutachten, die beim Verbund für angewandte Hygiene (fortan VAH) zur Zertifizierung und Listung in der VAH-Desinfektionsmittel-Liste eingereicht wurden, aus den Jahren 2000-2022 gesichtet, eingescannt und die wesentlichen Werte anschließend in Excel-Tabellen übertragen. Insgesamt sind 532 Prüfberichte und Gutachten mit in die Datenbank eingeflossen.

Die verschiedenen Prüflabore sind in Tabelle 1 (fortan Tab.) dargestellt. Dabei sind die Prüflabore in einer alphabetischen Reihenfolge sortiert und randomisiert einer Nummer zugeordnet. Wie aus Tab. 2 ersichtlich, wurden den verwendeten Zellkulturen ebenfalls Nummern zugeteilt. So wurde diese insgesamt in 17 verschiedene Zellkultursysteme unterteilt, zu denen u.a. A-549 Zellen, A-9 Zellen und BELK Zellen gehören (Anhang 1 s. Anhang).

Tab. 1: Übersicht Prüflabore

Prüflabore	Standorte
Biotecon	Bremen, Deutschland
Chemila	Hodonin, Deutschland
Dr. Brill und Partner GmbH	Bremen, Deutschland
Dr. Merk & Kollegen	Bettlach, Deutschland
Enders	Stuttgart, Deutschland
Eurovir	Luckenwalde, Deutschland
Henkel	Düsseldorf, Deutschland
Hyggen Bischofshofen	Bischofshofen, Österreich
Hyggen Schwerin	Schwerin, Deutschland
Landesuntersuchungsamt für Chemie, Hygiene und Veterinärmedizin	Bremen, Deutschland
Micromun	Greifswald, Deutschland
MikroLab GmbH	Fürth, Deutschland
Uni Gießen	Gießen, Deutschland
Uni Jena	Jena, Deutschland

2.2 Methoden

Anhand der vorliegenden Prüfberichte und Gutachten war es möglich, eine Datenbank mit folgenden Kriterien zu erstellen: Dateiname (aus der online-Datenbank), Datum, Bericht, Gutachter, Prüflabor, Methode, Virus, Quelle Virus, Passage Virus, Zellkultur, Quelle Zellkultur, Passage Zellkultur, Testzeitraum, Referenzsubstanz, Konzentration, Reduktionsfaktor (fortan RF) 5 min, RF 15 min, RF 30 min, RF 60 min, RF 120 min und RF 240 min. Anschließend wurde die Tabelle durch folgende Kriterien erweitert: laufende Nummer, Produktname, Zähler VAH, Aktenzeichen, Liste intern, Umschreibung, Wirkungsspektrum, 2. Gutachten, Praxis, Zertifikat, Sparte (Anwendungsbereich), Bemerkung und RKI-Listung.

Im nächsten Schritt erfolgte die Unterteilung der Datenbank durch Aufteilung der Daten nach Referenzsubstanz, Testvirus und Testdesign.

Im Anschluss wurden diesen Daten hinsichtlich ihrer Zeitintervalle aufgeteilt und mit einer ID versehen, sodass eine Zuordnung der individuellen Reduktionsfaktoren zu den Suspensionsversuchen jederzeit möglich war. Die endgültigen Datensätze bestanden nun aus den Kriterien Virus, Methode, Prüflabor, Zellkultur, Referenzsubstanz, Konzentration,

Zeit, RF und ID. Dabei wurde der Name der Zellkultur und des Prüflabors konsequent durch eine numerische Zahl ersetzt. Aus datenschutzrechtlichen/-technischen Gründen wurden die Prüflabore hier nicht mit ihrer zugeordneten Nummer, sondern in alphabetischer Reihenfolge angegeben (Tab. 1 und A1, siehe Anhang).

Die Auswertung der Datenbank erfolgte nach dem Stand vom 13.07.2022 und fand in enger Zusammenarbeit mit der statistischen Beratungsstelle IMBIE der Universität Bonn statt. Die Analysen wurden mit Hilfe der Statistiksoftware R (Version 4.2.0) und der Benutzeroberfläche RStudio (Version 2022.02.3+492, <http://rstudio.com>) durchgeführt. Zur Analyse der Daten kam ein linear gemischtes Regressionsmodell in R mit dem nlme Softwarepaket (Version 3.1 -158) zur Anwendung. Die graphische Darstellung wurde sowohl durch das RStudio (Version 2022.02.3+492, <http://rstudio.com>) mit dem Softwarepaket Graphics (Version 4.2.0), als auch mit Microsoft Excel 2022 (Version 16.62) unterstützt.

Zunächst wurden die Datensätze deskriptiv nach Zeit, Prüflabor und Zellkultur in Boxplots dargestellt. Diese Boxplots ermöglichten eine Visualisierung der durchschnittlichen Reduktion, sowie die Streuung der Ergebnisse unter Berücksichtigung der Anzahl der durchgeführten Suspensionsversuche, sodass die Werte sehr gut vergleichbar waren.

In einem weiteren Schritt konnten die Prüflabore und Zellkulturen auf die verschiedenen Zeitintervalle von 5 min bis 120 min je nach Datenlage aufgeteilt und dabei, basierend auf den Leitlinien des DVV/RKI und der DIN EN 14476, gegenübergestellt und ausgewertet werden. Als Nächstes wurden die Datensätze auf mögliche Einflussgrößen von Prüflabor bzw. Zellkultur auf die durchschnittliche Reduktion untersucht. Unterstützt wurde dies mit dem linearen Regressionsmodell. Die Auswertung erfolgte in RStudio.

Gemischte lineare Regressionsmodelle analysierten den Einfluss von unabhängigen Variablen (in unserem Fall Prüflabor und Zellkultur) auf eine abhängige Variable (in unserem Fall die Virustiterreduktion). Für die Analyse wurde folgende Gleichung verwendet:

$$y = \beta_0 + \beta_1 * x_1 + \beta_2 * x_2 + \dots \dots \beta_n * x_n + \varepsilon$$

wobei β_0 den Intercept, β_1 bis β_n das Regressionsgewicht bzw. den Regressionkoeffizient darstellen, x_1 bis x_n die erklärende Variabel und ε die zufällige Fehlerquote angibt.

Im Rahmen der Nullhypothese wurde davon ausgegangen, dass die unabhängigen Variablen keinen Einfluss hatten. Der aus dem linearen Regressionsmodell errechnete p-Wert gibt an, in wieviel Prozent der Fälle dies zutrifft. Ist der p-Wert $\leq 0,05$, kann im Umkehrschluss dazu in 95% der Fälle oder häufiger die Nullhypothese abgelehnt werden und zeigt somit einen signifikanten Einfluss des Faktors. In diesem Fall spricht man von einer 95%igen Signifikanz. Darüber hinaus konnte mit Unterstützung von R Studio der Erwartungswert und der Standardwert ermittelt werden. Anhand dieser Werte wurde ein 95%iges Konfidenzintervall für die signifikanten Einflussfaktoren berechnet. Die Formel hierzu stellt sich folgendermaßen dar:

$$KI \text{ für } \mu = \bar{x} \pm z * \frac{\sigma}{\sqrt{(n)}}$$

$\bar{x}$ stellte den Erwartungswert dar, z das Konfidenzniveau, σ die Varianz und n die Stichprobengröße. Für die Berechnung eines 95%-Konfidenzintervall ist z mit 1,95996 zu berücksichtigen.

Abschließend fand zu allen Datensätzen eine Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle in Abhängigkeit der Zeitintervalle statt.

Wichtig war zudem der Hinweis, dass bei den Testungen mit Vaccinia-Viren diese entweder mit dem modified Vacciniavirus Ankara (MVA) oder mit Vaccinia-Virus Elstree (VVE). durchgeführt wurden, sodass die zusätzliche Einflussgröße der Wahl des Virus zu untersuchen war.

Im Folgenden wird exemplarisch die Auswertung der Ergebnisse mittels RStudio für das Vaccinia-Virus nach Methode DIN EN 14476 bei 0,7% Formaldehyd als Referenzsubstanz anhand Tabelle 3 erklärt.

Tab. 2: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen DIN EN 14476 mit Vaccinia-Virus bei 0.7% Formaldehyd.

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-Value
Virus:	Vaccinia Ankara	105	(Intercept)	2.6076114	0.9185128	73	2.838949	0.0059
	Vaccinia Elstree	19	Zellkultur	0.091031	0.162993	38	0.558496	0.5798
			VirusVaccinia Elstree	-1.7936167	0.7823763	38	-2.292524	0.0275 x
Methode:	DIN EN 14467		Prüflabor2	-1.1939432	0.555927	38	-2.147662	0.0382 x
			Prüflabor3	-0.1482568	1.0260888	38	-0.144487	0.8859
Referenzsubstanz	Formaldehyd 0.7%		Prüflabor4	0.1771204	1.79349	38	0.098757	0.9219
			Prüflabor5	-0.7970247	1.7368766	38	-0.458884	0.6489
Prüflabor:	1	11	Prüflabor7	-0.6886381	0.4996638	38	-1.378203	0.1762
	2	18	Prüflabor9	0.3683337	1.483265	38	0.248326	0.8052
	3	8	Prüflabor12	-0.195082	0.5489685	38	-0.355361	0.7243
	4	4	Zeit15	0.6771917	0.1266661	73	5.346275	0
	5	2	Zeit30	1.0697746	0.1678889	73	6.371921	0
	7	56	Zeit60	1.0979486	0.1658692	73	6.619363	0
	9	7						
	12	18	Residual standard error: 0.9942 on 111 degrees of freedom					
			Multiple R-squared: 0.2744, Adjusted R-squared: 0.196					
Zellkultur:	5	103	F-statistic: 3.499 on 12 and 111 DF, p-value: 0.0002107					
	6	2						
	10	2						
	14	15						
	17	2						
				Erwartungswert	Std. Error		unter Grenze	obere Grenze
				Elstree				
Zeit in min	5	38	Labor 2	Minute 5	-0.2889175	2.4198091	-5.0316465	4.45381154
	15	39		Minute 15	0.3882742	2.5464752	-4.6027153	5.37926373
	30	22		Minute 30	0.7808571	2.587698	-4.2909275	5.85264167
	60	25		Minute 60	0.8090311	2.5856783	-4.2587949	5.87685714
				Ankara				
			Labor 2	Minute 5	1.5046992	1.6374328	-1.7046036	4.71400199
				Minute 15	2.1818909	1.7640989	-1.2756724	5.63945418
				Minute 30	2.5744738	1.8053217	-0.9638845	6.11283212
				Minute 60	2.6026478	1.803302	-0.931752	6.13704759

Tabelle 2 beginnt von links gelesen mit der deskriptiven Statistik. Bei festgelegter Prüfmethode und Referenzsubstanz, gibt die Tabelle die Art der verwendeten Viren, die Prüflabore, sowie die Art der Zellkultur und die auserwählten Einwirkzeiten von 5 min, 15 min, 30 min und 60 min in deren absoluten Häufigkeiten an. Am Beispiel des Vaccinia-Virus ist zu erkennen, dass das Vacciniavirus hier noch mal in das MVA, mit einer absoluten Häufigkeit von 105 und in VVE, mit einer absoluten Häufigkeit von 19 unterschieden wird. Zudem kann abgelesen werden, dass für die Suspensionsversuche nach DIN EN 14476 mit den Vaccinia-Viren 11 mal das Prüflabor 1 beauftragt wurde, 103 mal die Zellkultur 5 verwendet wurde und der RF nach 5 min insgesamt 38 mal gemessen wurde. Auf der rechten Seite der Tabelle 2 stehen die Ergebnisse aus RStudio, wobei Intercept dem β_0 aus der unter 2.2 stehenden Gleichung für lineare gemischte Regressionsmodelle entspricht. Die Art der Viren, Prüflabore, Zellkulturen und Zeitintervalle entsprechen x_1 bis x_n . Sie stellen die erklärenden Variablen da. Die Werte, die hinter den erklärenden Variablen stehen, stellen das Regressionsgewicht bzw. β_1 bis

β_n da. Dass in diesem Fall die unterschiedlichen Zellkultursysteme als eine erklärende Variabel zusammengefasst wurden, liegt an der ungleichen Verteilung der Zellkulturen (siehe Tabelle 1, deskriptiver Teil). Zudem ist zu erkennen, dass jeweils eine der erklärenden Variablen in der Listung fehlt. Diese wurde in den Intercept bereits mit einberechnet. Um nun beispielsweise den Erwartungswert für die Testdurchführung mit VVE in Prüflabor 2 nach 15 min unter Berücksichtigung des Einflusses der Zellkultursysteme zu berechnen, müssen die gewünschten Einflussgrößen zu dem Intercept addiert werden. So ergibt sich für unser Beispiel folgende Gleichung,
 $E(x) = 2.6076114 + 0.091031 + (-1.7936167) + (-1.1939432) + 0.6771917 = 0.3882742$
 wobei $E(x)$ für den Erwartungswert steht.

Für die Berechnung von erklärenden Variablen, die nicht gelistet sind, wie z.B. das MVA, lässt man diese aus der Gleichung aus. Sie wurden bereits in dem Intercept mitberücksichtigt.

Nach dem gleichen Vorgehen wird die Standardabweichung berechnet, mit dem einzigen Unterschied, dass dafür die Werte, die unter Std. Error gelistet sind, verwendet werden.

So ergibt sich für die Berechnung der Standardabweichung σ für selbiges Beispiel (Vaccinia Elstree, Prüflabor 2, 15 min), folgende Gleichung:

$$\sigma = 0.9185128 + 0.162993 + 0.7823763 + 0.555927 + 0.1266661 = 2.5464752$$

So erhält man Erwartungswert $E(x)$ und Standardabweichung σ , die dann nach

$$KI \text{ für } \mu = \bar{x} \pm z * \frac{\sigma}{\sqrt{(n)}}$$

zur Berechnung des 95% Konfidenzintervalls hinzugezogen werden. Die Werte der oberen und unteren Grenze sind ebenfalls aus der Tabelle zu entnehmen und bilden in unserem Fall -4.6027153 für die untere Grenze und 5.37926373 für die obere Grenze. Die P-Werte 0.005 haben einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis und sind mit einem x markiert. Diese Werte können in der Spalte p-Value gefunden werden. Die Berechnung der 95% Konfidenzintervalle wurden nur für erklärende Variablen mit einem signifikanten Einfluss auf das Ergebnis durchgeführt. Darüber hinaus wird auch noch das adjustierte R^2 angegeben, welches in unserem Fall 0.196 beträgt. Das adjustierte R^2 gibt dabei an, wieviel Prozent der Ergebnisse durch die unabhängigen Variablen erklärt werden konnten.

Anhand des adjustierten R^2 von 0,196 konnte in diesem Modell folglich 19,6 % der Reduktionsfaktoren mit den Einflüssen von Prüflabor und Zellkultur erklärt werden. Blocksatz einstellen

2.3 Einschränkungen der statistischen Auswertung

Generell lag der limitierende Faktor der statistischen Auswertung der erstellten Datenbank hauptsächlich in der ungleichmäßigen Verteilung der Daten.

Wie aus Tab. 3 zu entnehmen ist, wurden für die Testung auf Viruzidie bei Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 hauptsächlich die Prüfmethode nach den Richtlinien des DVV/RKI und DIN EN 14476 durchgeführt.

Tab. 3: Verteilung der Prüfmethoden bei den Suspensionsversuchen und praxisnahentest auf sowohl nationaler als auch europäischer Ebene aus der erstellten Datenbank.

<i>Methode</i>	<i>Anzahl</i>
DIN EN 14476	156
DVV/RKI	226
DIN EN 16777	18
DVV/RKI 2012	18

Bei fast allen Versuchsauswertungen wurde als Referenzsubstanz 0,7% Formaldehyd verwendet (Tab. 4). Die mangelnde Datenlage zu Ethanol, Glutaraldehyd und Peressigsäure als Referenzsubstanz, sowie deren uneinheitliche Konzentrationen bei der Anwendung führten somit zu dem Ausschluss einer weiteren Datenverarbeitung. Damit konzentrierte sich die statistische Auswertung auf Versuche mit 0,7% Formaldehyd als Referenzsubstanz.

Tab. 4: Verteilung der Referenzsubstanzen mit ihrer zugehörigen Konzentration aus der Datenbank.

Referenzsubstanzen	Anzahl
Formaldehyd 0.7%	341
Formaldehyd 1.4%	4
Formaldehyd 36 - 38%	1
Glutaraldehyd 0.005%	7
Glutaraldehyd 0.0125%	5
Glutaraldehyd 0.013%	1
Glutaraldehyd 0.05%	3
Glutaraldehyd 0.1%	3
Glutaraldehyd 0.2%	1
Glutaraldehyd 0.25%	1
Glutaraldehyd 0.35%	1
Glutaraldehyd 0.4%	1
Glutaraldehyd 0.45%	1
Glutaraldehyd 50 %	9
Ethanol 0.7%	2
Ethanol 50%	7
Peressigsäure 0.0048%	1
Peressigsäure 0.005%	9
Peressigsäure 0.05%	2
Peressigsäure 40%	3

Weiterhin wurde bei der Einteilung der Datenbank sichtbar, dass hinsichtlich der geprüften Viren die Datenlage in Bezug auf Coronaviren, felines Calicivirus F9, sowie Rotaviren so gering ausfiel, dass diese Viren ebenfalls aus der statistischen Analyse ausgeschlossen werden mussten. (Tab.5)

Tab. 5: Verteilung der für die Suspensionsversuche und praxisnahen Tests verwendeten Viren aus der Datenbank.

Virus	Anzahl
MVA	45
VVE	73
Bovines Viral Diarrhoe Virus	67
Murines Parvovirus	49
Adenovirus	48
Murines Norovirus	37
Poliovirus	31
Polyomavirus	26
Bovine Coronavirus	3
Rotavirus	9
Felines Claicivirus F9	5

Darüber hinaus wurde die Datenbank von Umschreibungen (gleiche Gutachten und Prüfberichte für unterschiedliche Produktbezeichnungen) bereinigt und somit die Datenmenge weiterhin geschmälert.

Letztendlich konzentrierte sich die statistische Untersuchung auf Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 mit 0,7 % Formaldehyd als Referenzsubstanz und folgenden Viren: Vacciniavirus (MVA und VVE), BVDV, murines Parvovirus, Adenoviren, murines Norovirus, Rotavirus, Poliovirus sowie das Polyomavirus.

Prüflabore und Zellkulturen konnten ausreichend gut zusammengefasst und mit in die statistische Bewertung aufgenommen werden.

Im weiteren Verlauf konnten daher die gemittelten Reduktionen bei den verschiedenen Prüflaboren und Zellkultursystemen getrennt nach Testvirus und Testmethode dargestellt werden.

3. Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse, die im Rahmen der Recherche für die Referenzsubstanzen Formaldehyd 0.7% ermittelt wurde, zusammengefasst. Dies erfolgt sortiert nach den Testviren, in Abhängigkeit der Einwirkzeit, Prüflaboratorien, Zellkultursysteme und Testmethoden.

3.1 Vacciniavirus

Die bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem Vacciniavirus werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf zur Einwirkzeit betrachtet (siehe 3.1.1) und weiterführend nach Art des Prüflabors (siehe 3.1.2) und des Zellkultursystems (siehe 3.1.3) differenziert einander gegenübergestellt.

3.1.1 Vaccinia-Virus in Abhängigkeit der Einwirkzeit

In den folgenden Abbildung 1 und 2 (fortan Abb.) wurden für Suspensionsversuche mit Vacciniavirus die mittleren RF zu den jeweiligen Einwirkzeiten ermittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt dargestellt. Somit ist der mittlere RF für die Prüfmethode nach DIN EN 14476 und DVV/RKI in Abb.1 und Abb. 2 nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min sehr gut ablesbar. Darüber hinaus geben die Box-Plots die Interquartilsabstände, das sind die Bereiche in denen 50% der Messungen liegen, sowie abweichende Ausreißer, das sind Messwerte die außerhalb des 1,5fachen Interquartilsabstand liegen, an. Die Ausreißer sind als vereinzelte Punkte außerhalb der Kastengraphik dargestellt.

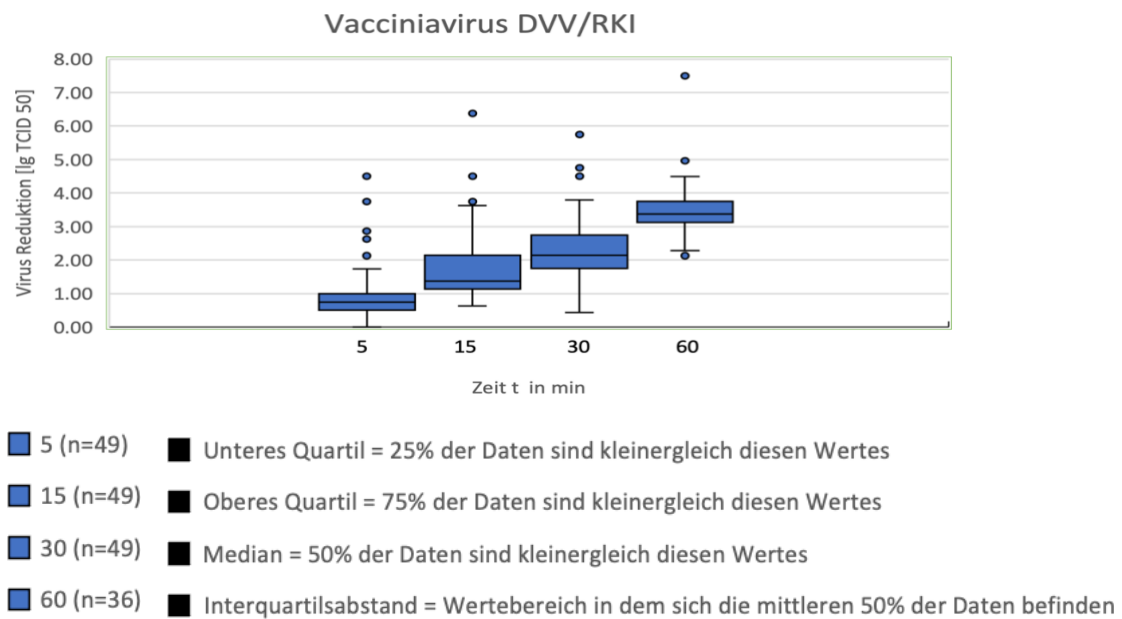


Abb. 1: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Vacciniavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Einwirkzeiten. Dabei gibt n die Anzahl der vorliegenden Testergebnisse an.

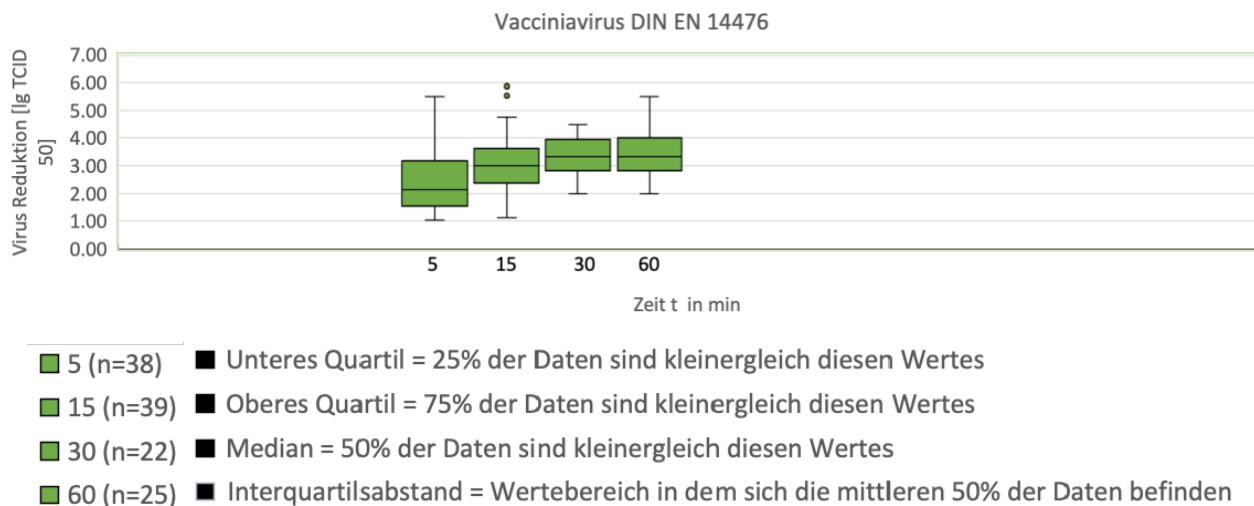


Abb. 2: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Vacciniavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Einwirkzeiten. Dabei gibt n die Anzahl der vorliegenden Testergebnisse an.

Bei Analyse der Ergebnisse zum Vacciniavirus (Abb. 1 und Abb. 2) ist bei einer direkten Gegenüberstellung der beiden Methoden DVV/RKI und DIN EN 14476 auffällig, dass die

Methode nach DVV/RKI sowohl niedrigere durchschnittliche Reduktionsstufen, als auch geringere Streuungen aufweist. Die Werte der Mediane fallen dementsprechend bei Methode DIN EN 14476 höher aus, als bei Methode DVV/RKI. So liegen die Mediane der RF im Vergleich DIN EN 14476 zu DVV/RKI nach den Einwirkzeiten von 5 min bei 2,14 lg zu 0,75 lg, nach 15 min bei 3 lg zu 1,38 lg, nach 30 min bei 3,33 lg zu 2,15 lg und nach 60 min bei 3,33 lg zu 3,38 lg-Stufen. Lediglich der Median nach 60 min bildet hier eine Ausnahme.

Ebenso zeigt sich, dass die Interquartilsabstände, in denen sich 50% der Messergebnisse befinden, nach Methode DVV/RKI enger beieinander lagen. Nach DIN EN 14476 erstrecken sich die Interquartilsabstände über eine maximale Spanne von 1,01 lg-Stufen, wohingegen der größte Interquartilsabstand nach DVV/RKI 1,66 lg-Stufen groß ist.

Bei den Versuchen nach DVV/RKI sind häufiger Ausreißer in den oberen Bereichen der lg-Stufen zu erkennen. Bei beiden Methoden liegt eine hohe Anzahl an Durchführungen (124 bei DIN EN 14476 und 227 bei DVV/RKI) vor. Tab. 3 sowie Tab. 7 (siehe Anhang) machen deutlich, dass nach Methode DIN EN 14476 ein Großteil an Versuchen mit dem MVA durchgeführt wurde, während bei den Versuchen nach Methode DVV/RKI vermehrt das VVE zum Einsatz kam.

3.1.2 Vacciniavirus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF des Vacciniavirus separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren darstellen.

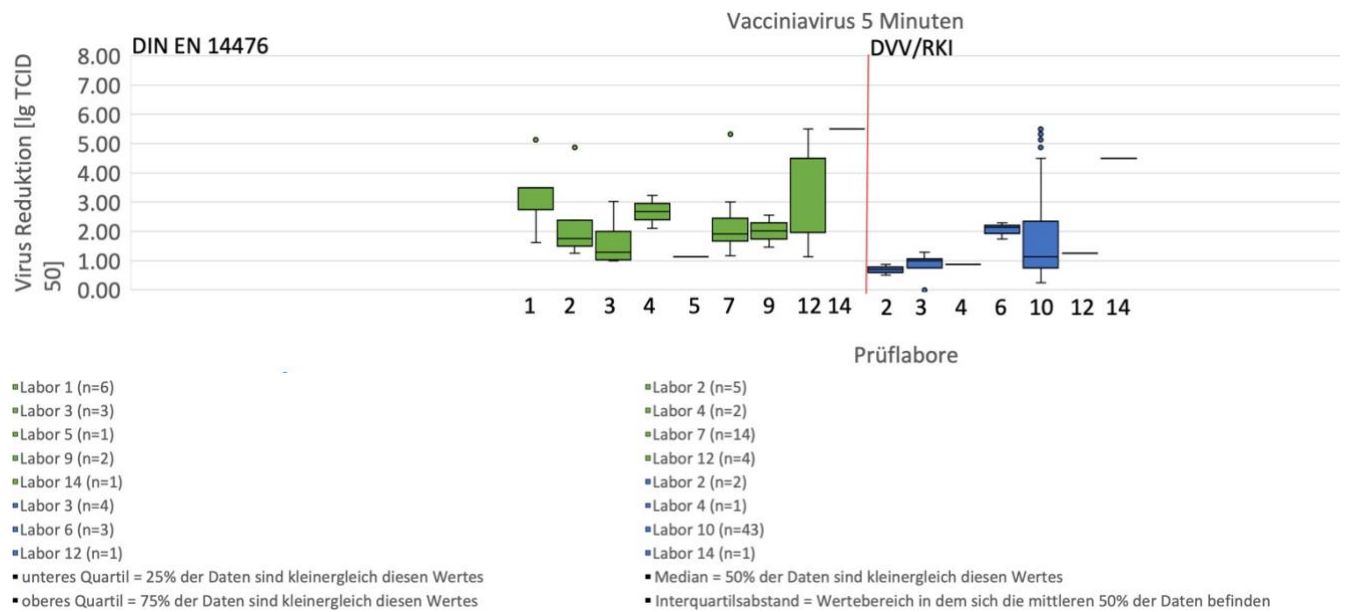


Abb. 3a: Virusreduktionen für Vacciniavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

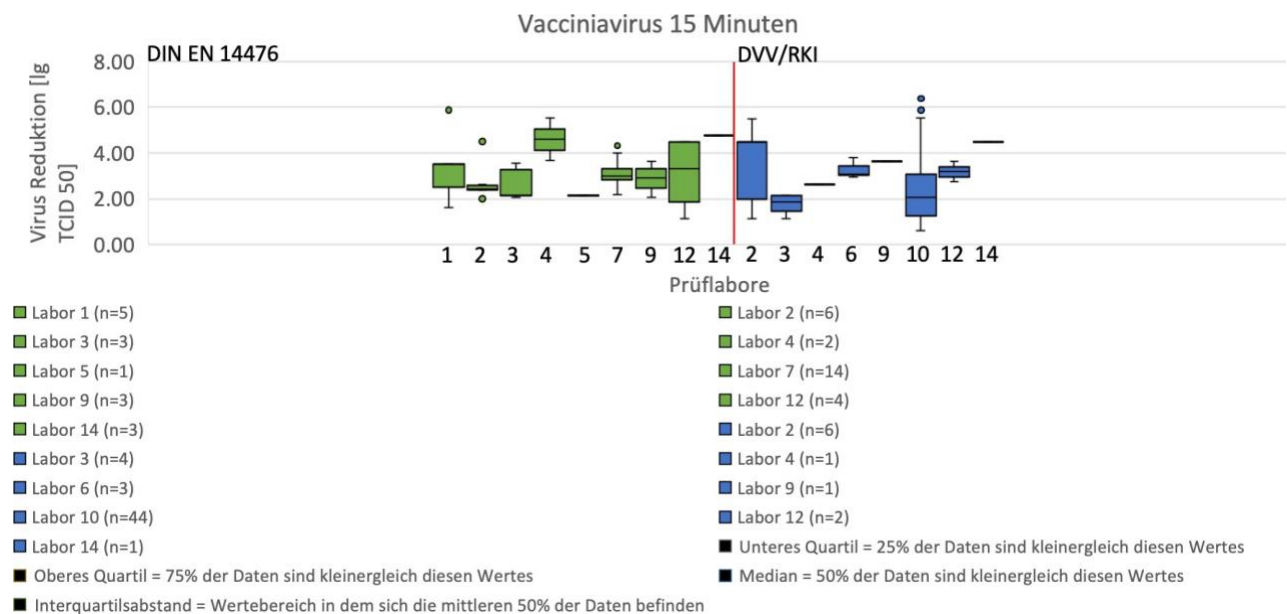


Abb. 3b: Virusreduktionen für Vacciniavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

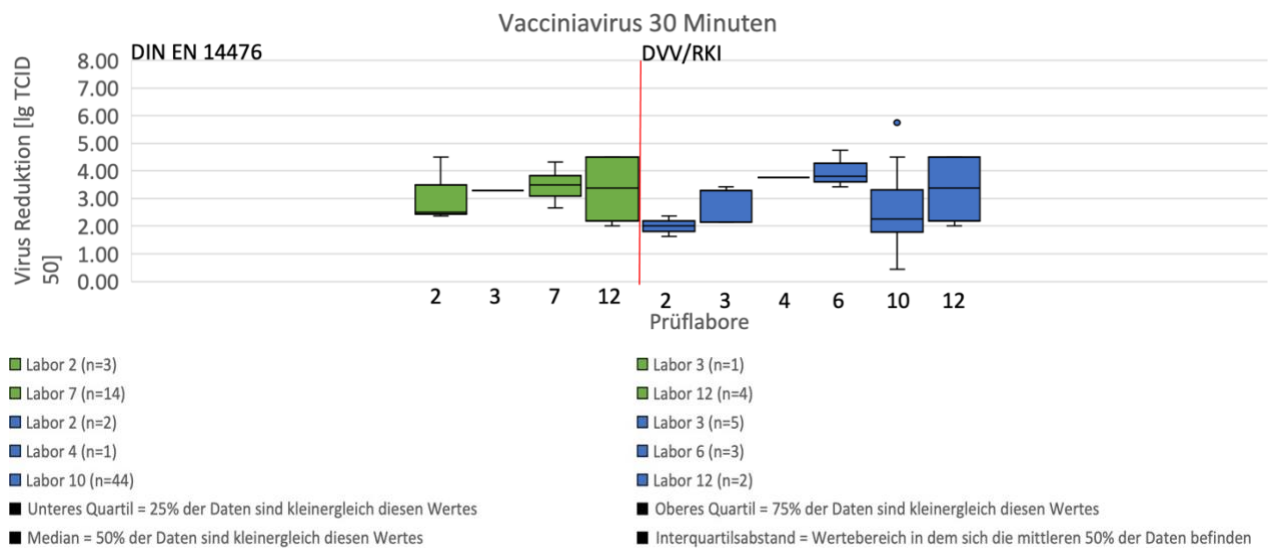


Abb. 3c: Virusreduktionen für Vacciniavirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

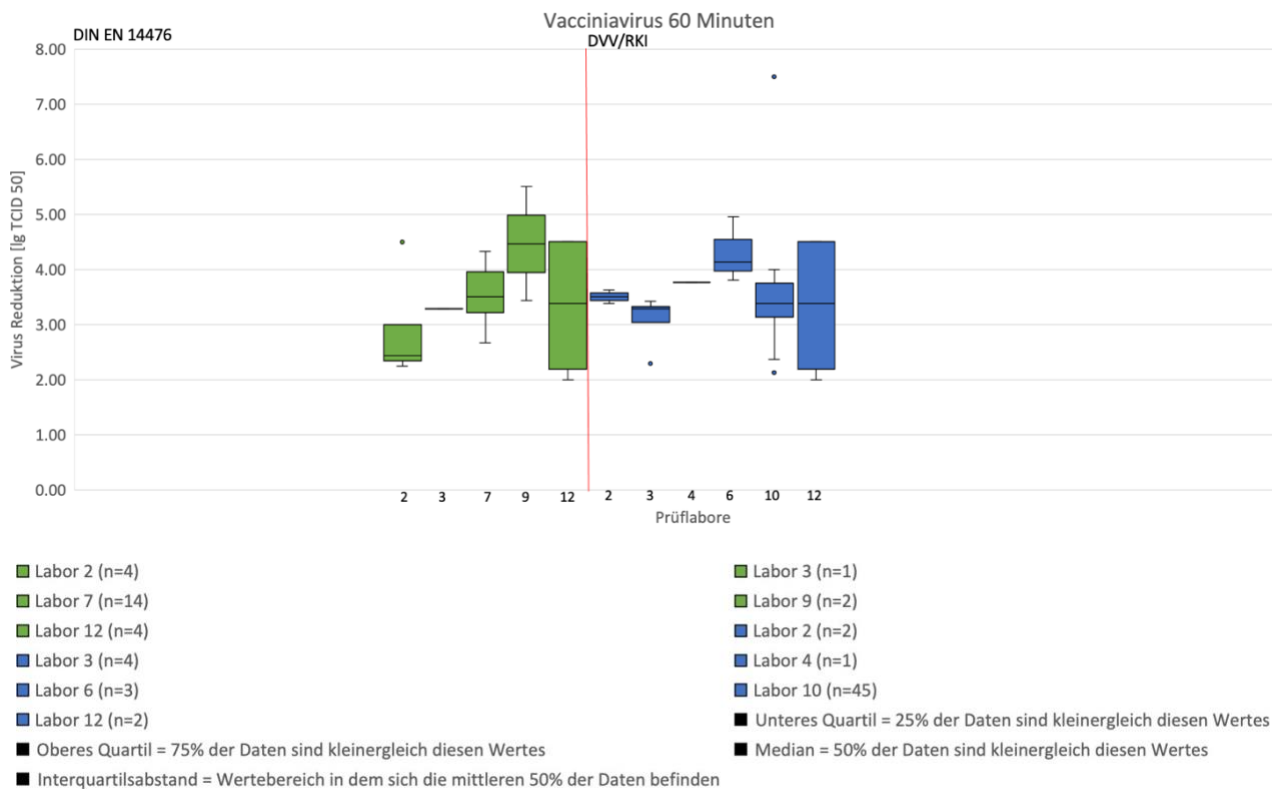


Abb. 3d: Virusreduktionen für Vacciniavirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 3a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Vacciniavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 3a), 15 min (Abb. 3b), 30 min (Abb. 3c) und 60 min (Abb. 3d) Einwirkzeit in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus Abb. 3a geht hervor, dass die durchschnittliche Reduktion des Vacciniavirus nach Methode DIN EN 14476 nach 5 Min Einwirkzeit bei den Prüflaboren 2, 3, 4, 12 und 14 deutlich höher ausfällt als nach Testmethode DVV/RKI. So liegen diese bei 1,75 Ig-Stufen für Labor 2, 1,28 Ig-Stufen für Labor 3, 2,68 Ig-Stufen für Labor 4, 1,13 Ig-Stufen für Labor 12 und 5,5 Ig-Stufen für Labor 14. Ebenso sind in diesen Prüflaboren, mit Ausnahme von Prüflabor 14, die Interquartilsabstände nach Testmethode DIN EN 14476 größer als nach Methode DVV/RKI

Abb. 3b zeigt, bei Prüflabor 3, 4 und 12 nach 15 Min Einwirkzeit bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 größere Interquartilsabstände als nach DVV/RKI vorliegen. So erstrecken sich die Interquartilsabstände nach 15 min und Prüfmethode DIN EN 14476 bei Labor 3 über 0,76 Ig-Stufen, bei Labor 4 über 0,92 Ig-Stufen und bei Prüflabor 12 über 2,62 Ig-Stufen. Hingegen betragen die Interquartilsabstände nach 15 min und Prüfmethode DVV/RKI für Prüflabor 3 0,67 Ig-Stufen, und für Prüflabor 12 0,44 Ig-Stufen. Für Prüflabor 4 konnte aufgrund der niedrigen Messwiederholungen kein Interquartilsabstand berechnet werden.

Es zeigt sich, dass nach Methode DIN EN 14476 und 15 Min Einwirkzeit die durchschnittliche Reduktion bei Prüflabor 2, 3, 4, 12 und 14 größer ausfällt als nach den Richtlinien des DVV/RKI. So liegen die gemittelten RF für die Prüflabore nach DIN EN 14476 bei 2,44 Ig-Stufen für Prüflabor 2, 3,28 Ig-Stufen für Prüflabor 3, 4,6 Ig-Stufen für Prüflabor 4, 3,315 Ig-Stufen für Prüflabor 12 und 4,75 Ig-Stufen für Prüflabor 14. Hingegen die mittleren RF nach Prüfmethode DVV/RKI bei 1,13 Ig-Stufen für Prüflabor 2, 1,86 Ig-Stufen für Prüflabor 3, 2,63 Ig-Stufen für Prüflabor 4, 3,19 für Prüflabor 12 und 4,5 Ig-Stufen für Prüflabor 14 zu sehen sind. (Abb. 3b)

Aus Abb. 3c und Abb. 3d geht hervor, dass bei Prüflabor 12 die durchschnittliche Reduktion mit 3,85 Ig-Stufen und der Interquartilsabstand von 2,30 Ig-Stufen sowohl nach 30 min als auch nach 60 min bei beiden Methoden gleich groß ausfallen. Prüflabor 2 erreicht bei der durchschnittlichen Reduktion, als auch bei den Interquartilsabständen nach 30 min Einwirkzeit höhere Werte bei der Prüfmethode nach DIN EN 14476. In

diesem Fall beträgt der durchschnittliche RF nach DIN EN 14476 bei Prüflabor 2 2,5 Ig-Stufen, wohingegen dieser nach DVV/RKI bei nur 2,01 Ig-Stufen liegt. Bezugnehmend auf den Interquartilsabstand bei Prüflabor 2 und Testmethode DIN EN 14476 erstreckt sich dieser über 1,06 Ig-Stufen, demgegenüber zeigt er nach Testmethode DVV/RKI nur Werte über 0,38 Ig-Stufen zeigt.

Nach 60 min Einwirkzeit und Testmethode DVV/RKI ist bei Prüflabor 2 der durchschnittliche RF mit 3,51 Ig-Stufen höher als nach DIN EN 14476, wo dieser 2,44 Ig-Stufen beträgt.

Aufgrund dessen, dass zu Prüflabor 3 nur eine Messung nach DIN EN 14476 vorliegt, wären weitere Vergleiche zu vage.

3.1.3 Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF des Vacciniavirus bei Anwendung unterschiedlicher Zellkultursysteme ermittelt und je nach Art der Testmethode in Abb. 4 und Abb. 5 getrennt dargestellt. Dies ermöglicht erste Vergleiche wie sich der RF bei unterschiedlichen Zellkulturen unter verschiedenen Testbedingungen verhält. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme nach Einwirkzeit berechnet, und weiter in Abb. 6a - d dargestellt. Aussagen bezüglichlicher Einflussnahmen auf den RF können unter Umständen (fortan u.U.). somit weiter präzisiert werden.

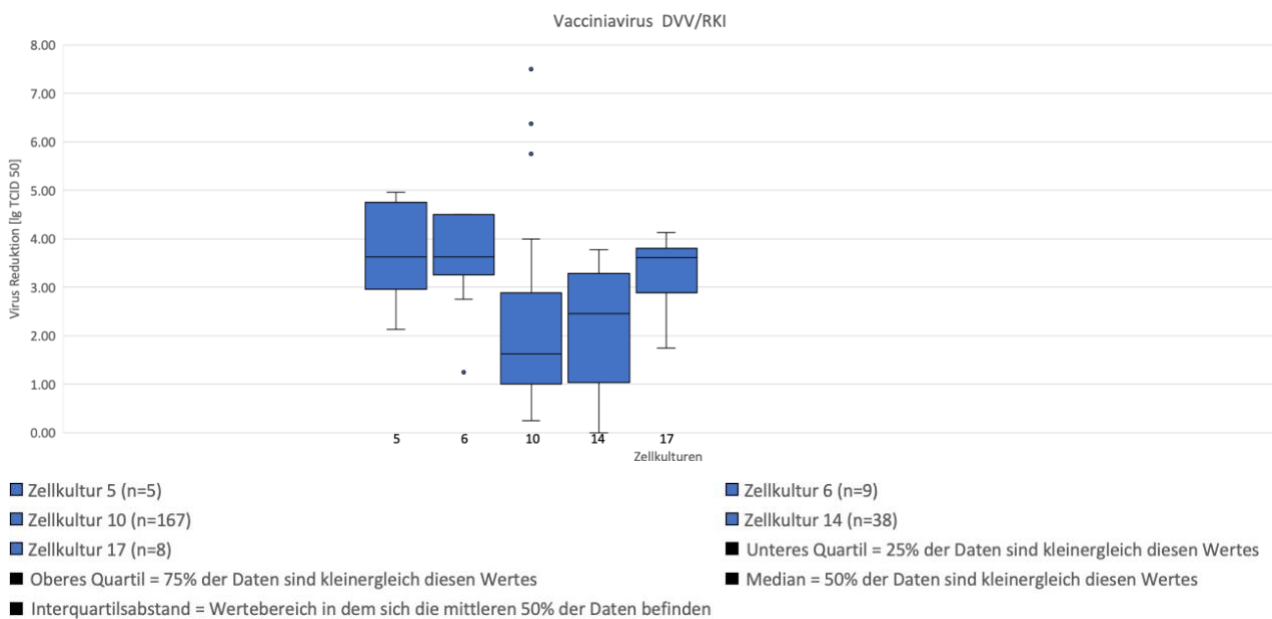


Abb. 4: Verteilung der Reduktion des Vacciniavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

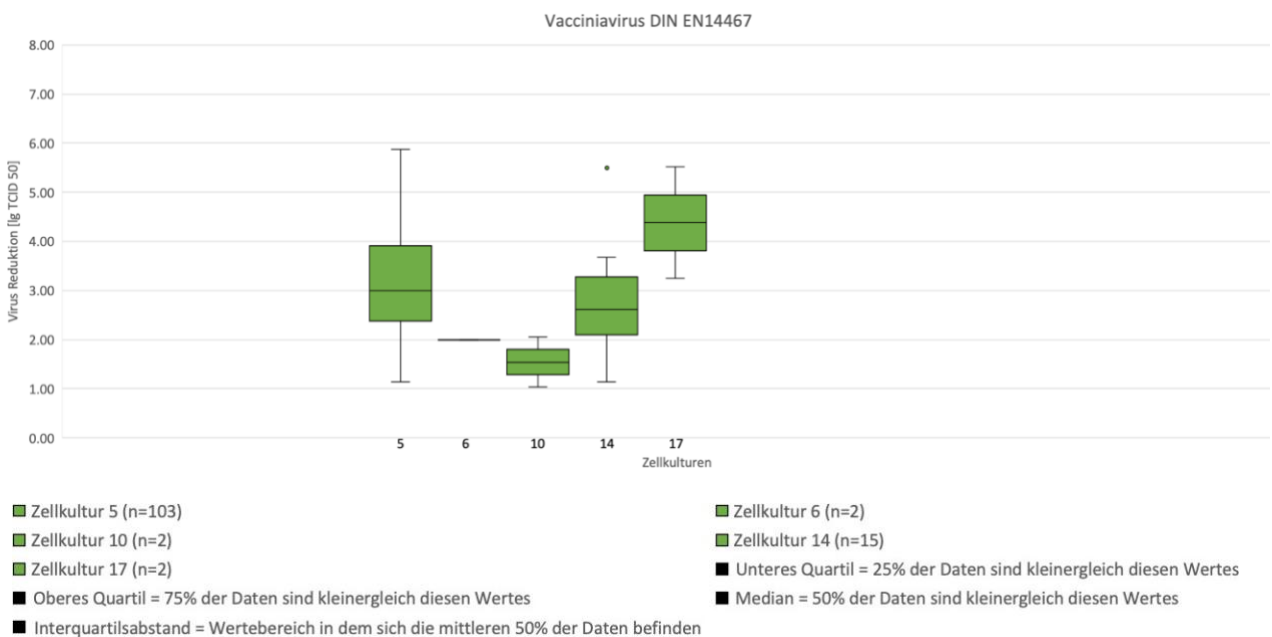


Abb. 5: Verteilung der Ergebnisse aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die verwendeten Zellkulturen bei der Züchtung des Vacciniavirus. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Bei den Suspensionsversuchen sowohl nach Methode DIN EN 14476 als auch nach Methode DVV/RKI wurden die Zellkulturen 5, 6, 10, 14 und 17 verwendet. Bei Zellkultur

17 gilt zu berücksichtigen, dass dies keine eigene Zellkultur ist, sondern eine aus mehreren verschiedenen Zellkulturen zusammengestellte. Bei Zellkultur 5 liegt der Median nach Methode DIN EN 14476 mit 3 Ig-Stufen deutlich unterhalb des Medians von Methode DVV/RKI, der 3,63 Ig-Stufen zeigt. Trotz einer hohen Anzahl an Messwiederholungen sind bei Zellkultur 5 nach Methode DIN EN 14476 und bei Zellkultur 10 nach Methode DVV/RKI die Interquartilsabstände vergleichbar gering ausgefallen. So erstreckt sich der Interquartilsabstand bei Zellkultur 5 nach DIN EN 14476 über 1,54 Ig-Stufen und bei Zellkultur 10 nach DVV/RKI über 1,88 Ig-Stufen.

Bei Zellkultur 14 liegt der Median nach Testmethode DIN EN 14476 nur 0,16 Ig-Stufen über dem Median nach DVV/RKI. Nur schwer lässt sich Zellkultur 6 vergleichen, da nach DIN EN 14476 kaum Messungen vorliegen.

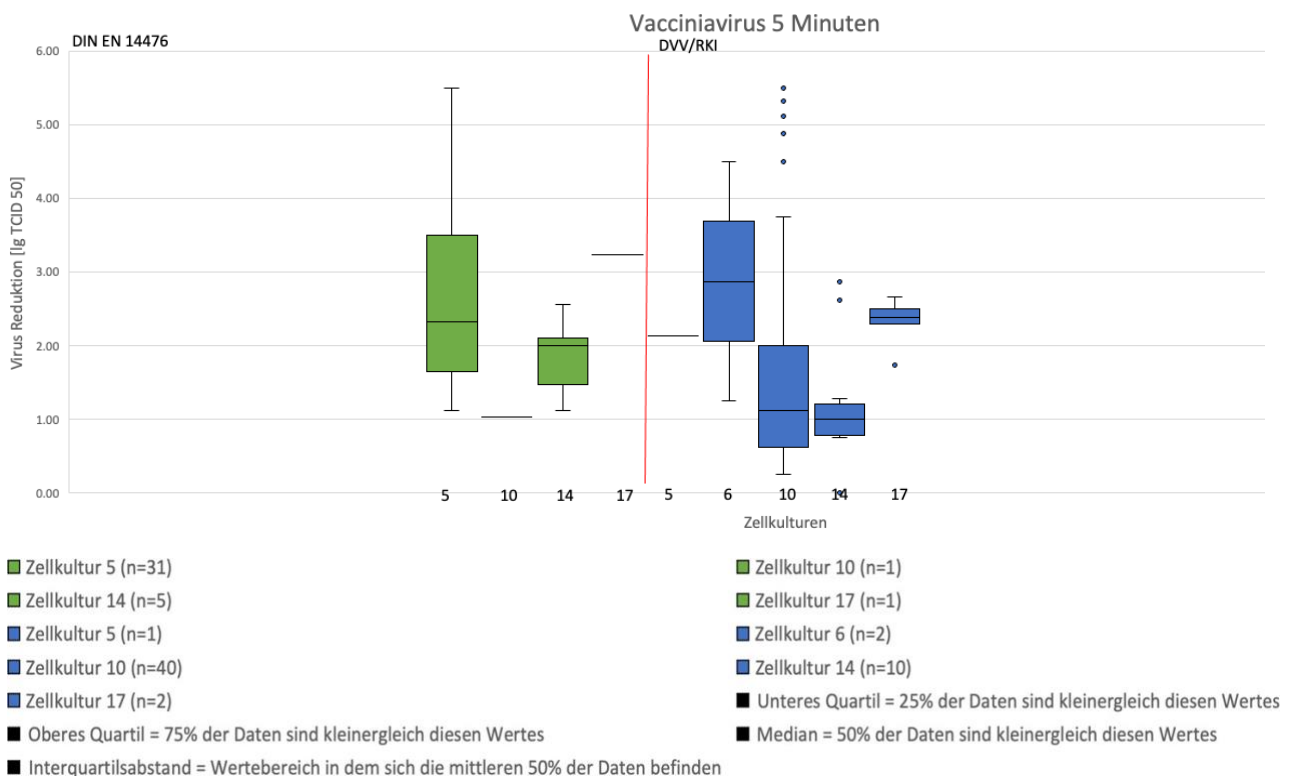


Abb. 6a: Virusreduktionen für Vacciniavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

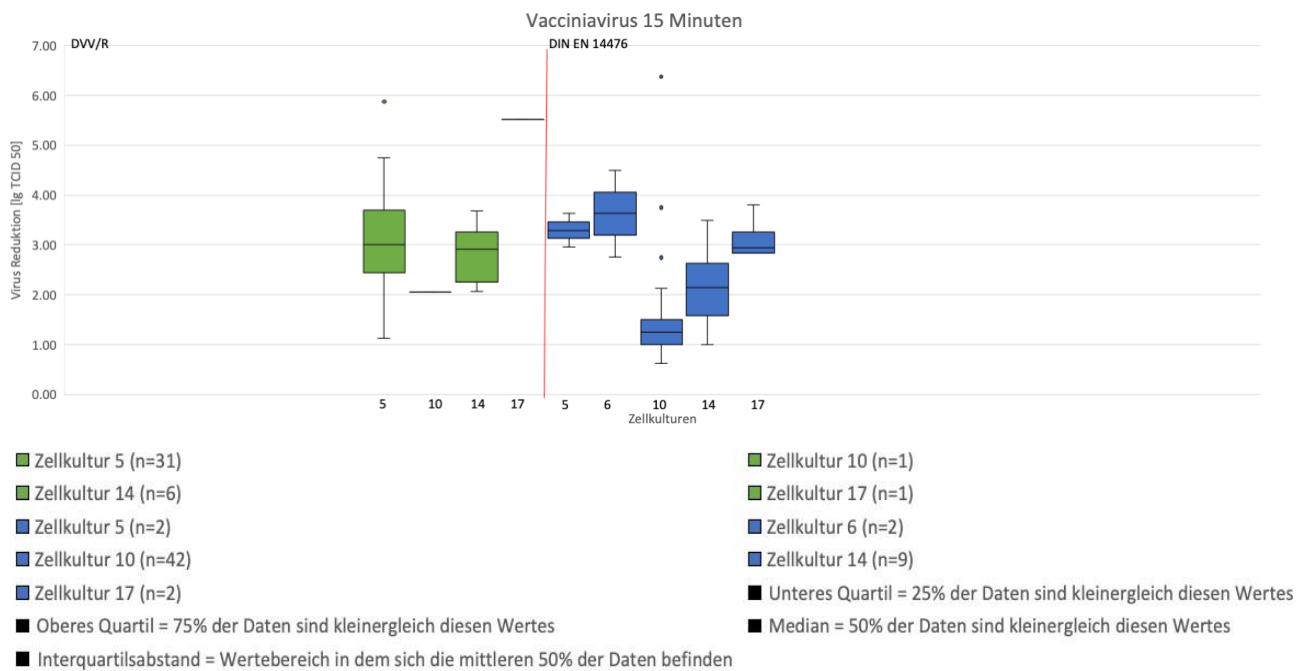


Abb. 6b: Virusreduktionen für Vacciniavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

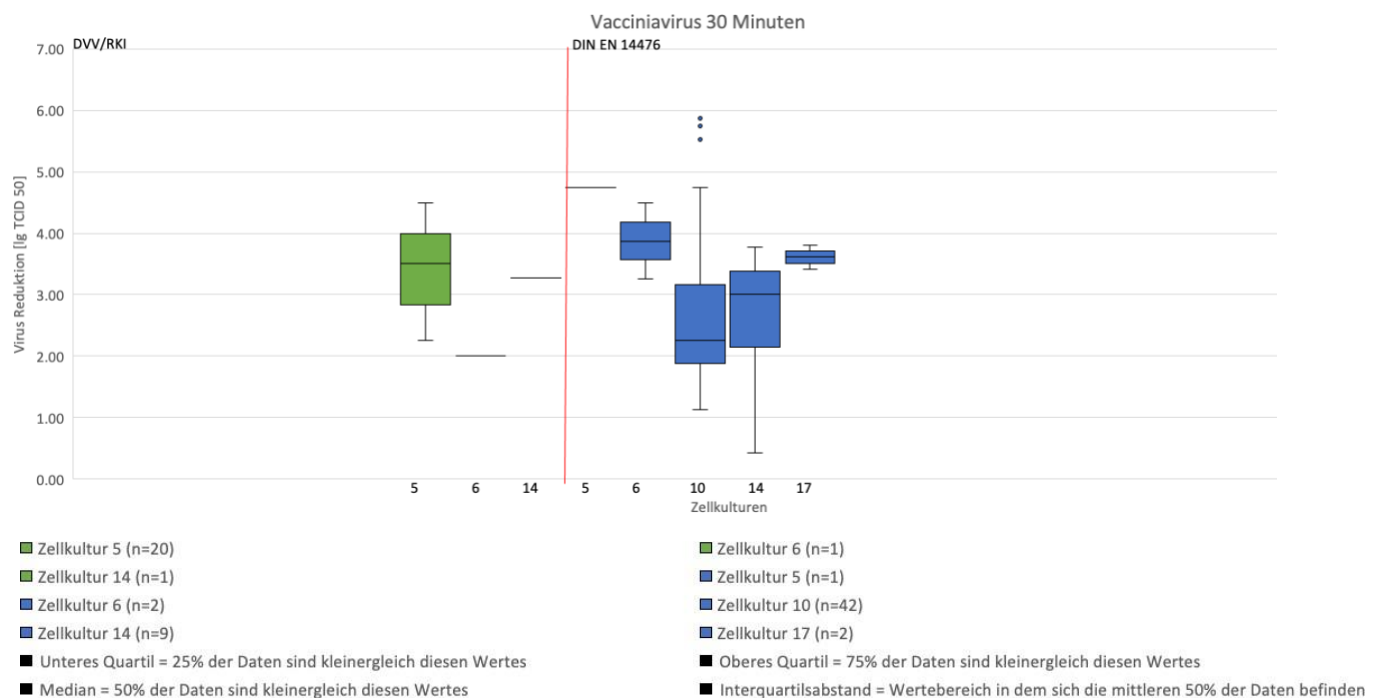


Abb. 6c: Virusreduktionen für Vacciniavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

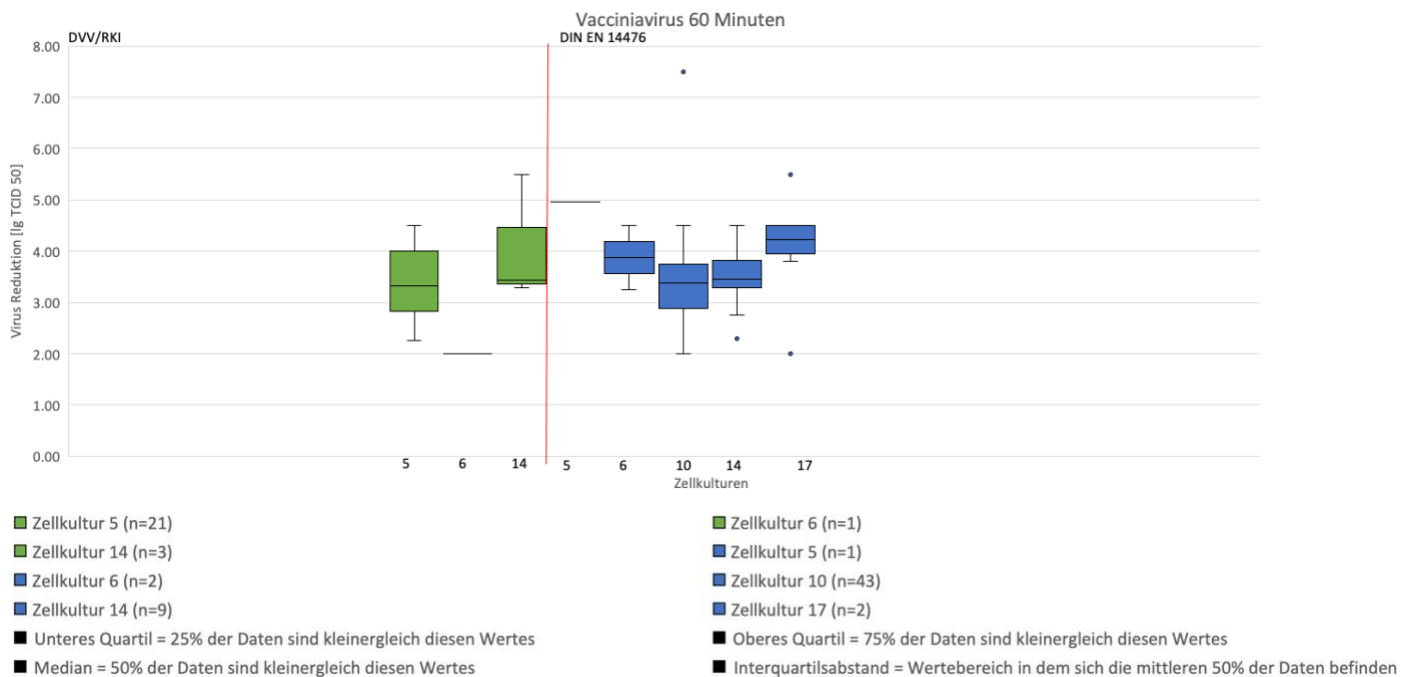


Abb. 6d: Virusreduktionen für Vacciniavirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 6a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Vacciniavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 6a), 15 min (Abb. 6b), 30 min (Abb. 6c) und 60 min (Abb. 6d) Einwirkzeit in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Anhand von Abb. 6a – d sind einige Besonderheiten bezüglich der Zellkultur 14 festzustellen. Auffallend ist, dass bei Zellkultur 14 nach Methode DIN EN 14476 die durchschnittliche Reduktion nach 5 min und 15 min einen deutlich höheren Wert ergab. Mit einem durchschnittlichen RF von 2 lg-Stufen nach 5 min Einwirkzeit und nach Methode DIN EN 14476 liegt der Wert fast doppelt so hoch, wie nach Methode DVV/RKI, der hier nur einen RF von 1 lg-Stufe aufweist. Nach 15 min Einwirkzeit verringert sich der Abstand der RF von 2,92 lg-Stufen nach DIN EN 14476 zu 2,14 lg-Stufen nach DVV/RKI. Nach 30 min Einwirkzeit lag bei Zellkultur 14 leider nur ein Messwert nach DIN EN 14476 vor. Der durchschnittliche RF nach DVV/RKI ist hier dem RF nach DIN EN 14476 ähnlich. Nach 60 min konnte die durchschnittliche Reduktion bei Zellkultur 14 bei beiden Methoden nahezu einen gleich großen Wert erzielen. So lag der durchschnittliche RF nach DIN EN 14476 bei 3,43 lg-Stufen und nach DVV/RKI bei 3,29 lg-Stufen.

Bezugnehmend auf die Interquartilsabstände bei Zellkultur 14 erstrecken sich diese nach 5 min Einwirkzeit über 0,64 Ig-Stufen nach DIN EN 14667 und über 0,43 Ig-Stufen nach DVV/RKI. Nach 15 min Einwirkzeit gibt es weiterhin eine Differenz in den Interquartilsabständen je nach Art der Prüfmethode. Nach DIN EN 14467 liegt sie bei 1,02 Ig-Stufen und nach DVV/RKI bei 1,05 Ig-Stufen. Nach 60 min liegt der Interquartilsabstand nach DIN EN 14476 bei 1,11 Ig-Stufen und nach DVV/RKI bei 0,37 Ig-Stufen.

3.1.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Vacciniavirus die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkomma Stellen genau angegeben. (Tab. 6,7)

Tab. 6: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Vacciniavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI.

Virus	Vacciniavirus			
Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	0.99527273	1.79844828	2.30678571	3.42596491
Standardabweichung	0.82991935	1.10474225	0.94685913	0.76173875
Stichprobengröße n	55	58	56	57
Standardfehler	0.1119063	0.14505976	0.12652937	0.10089476
Fehlergröße	0.21933188	0.28431134	0.24799251	0.1977497
95 % Konfidenzintervall	0.78 – 1.21	1.51 – 2.08	2.06 – 2.55	3.22 – 3.62

Tab. 7: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Vacciniavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476.

Virus	Vacciniavirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	2.52657895	3.1325641	3.39636364	3.4496
Standardabweichung	1.29520952	1.04390957	0.76677771	0.86811808
Stichprobengröße n	38	39	22	25
Standardfehler	0.21011073	0.16715931	0.16347756	0.17362362
Fehlergröße	0.41180863	0.32762557	0.32040947	0.34029534
95 % Konfidenzintervall	2.11 – 2.94	2.80 – 3.46	3.08 – 3.72	3.11 – 3.79

3.1.5. Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die Virustiterreduktion des Vacciniavirus bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 durch die Wahl des Testdesigns ist aufgefallen, dass die Daten bei den Zellkulturen so schlecht verteilt sind, dass diese zusammengefasst als numerische Variabel in das Regressionsmodell einfließen und somit ihr Effekt als linear zu interpretieren gilt. Es scheint weder nach Methode DIN EN 14476 noch nach Methode DVV/RKI ein signifikanter Einfluss von den Zellkulturen auszugehen. Hingegen konnte bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 gezeigt werden, dass der P-Wert bei dem VVE bei 0,03 lag und somit eine Nichteinflussnahme in 97.25% aller Fälle ausgeschlossen werden konnte. Demzufolge war der Einfluss durch die Wahl des Virus als signifikant einzustufen.

Ebenso fiel auf, dass Prüflabor 2 einen P-Wert von 0,04 erreichte, wodurch sich die Nullhypothese zu 96,18% ablehnen lässt. Folglich resultierte eine signifikante Einflussnahme durch sowohl die Wahl des Virus als auch durch das Prüflabor 2. Die errechneten Konfidenzintervalle zu Prüflabor 2 und dem VVE sind aus Tab. 3 zu entnehmen. Bei den Suspensionsversuchen zu dem Vacciniavirus nach Methode DVV/RKI ergab sich keine signifikante Einflussnahme durch die Wahl des Virus. Sondern diesmal kam es zum signifikanten Einfluss durch das Prüflabor 14. Dort konnte die Null-Hypothese zu 99.26% abgelehnt werden. Auch hier lassen sich die Konfidenzintervalle zu Prüflabor 14 aus A2 (siehe Anhang) entnehmen.

3.2 Bovine Viral Diarrhoe Virus

Die bei den Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem BVDV werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf zur Einwirkzeit betrachtet (siehe 3.2.1) und weiterführend nach Art des Prüflabors (siehe 3.2.2) und des Zellkultursystems (siehe 3.2.3) differenziert einander gegenübergestellt.

3.2.1 Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Einwirkzeit

In den folgenden Abb. 7 und Abb. 8 wurden für die Suspensionsversuche mit den BVDV die mittleren RF zu den jeweiligen Zeitintervallen gemittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt dargestellt. So lässt sich aus den Abbildungen der mittlere RF für DIN EN 14476 und DVV/RKI nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min Einwirkzeit ablesen.

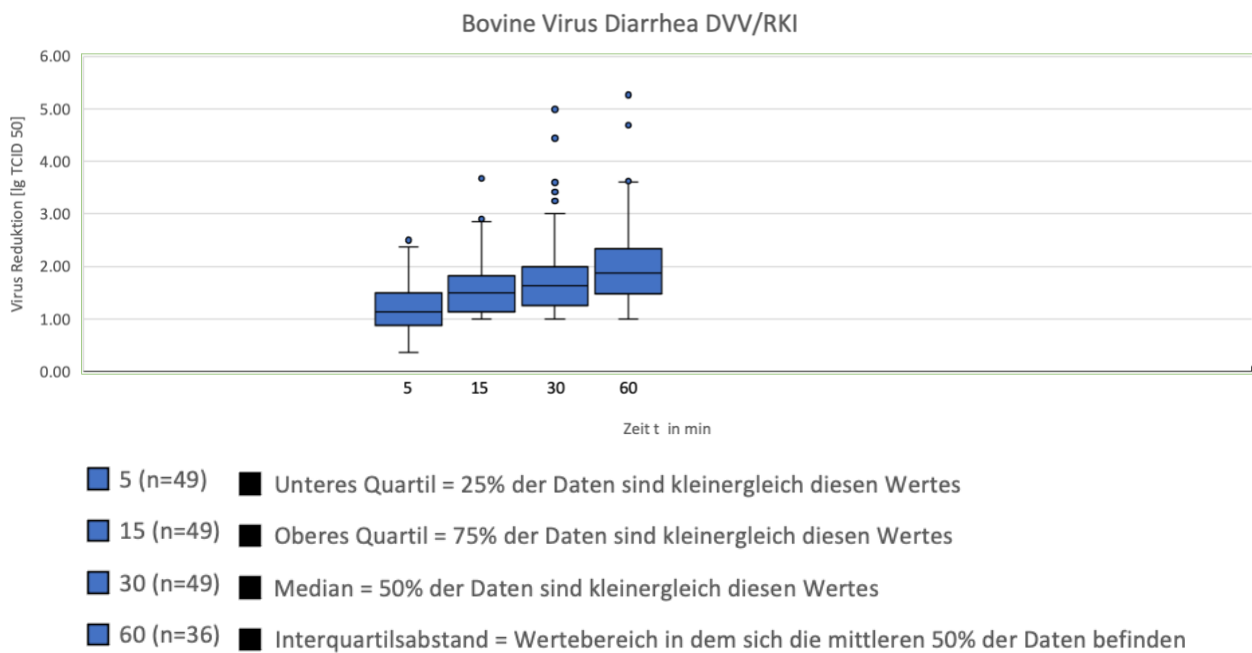


Abb. 7: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem BVDV aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Einwirkzeiten. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

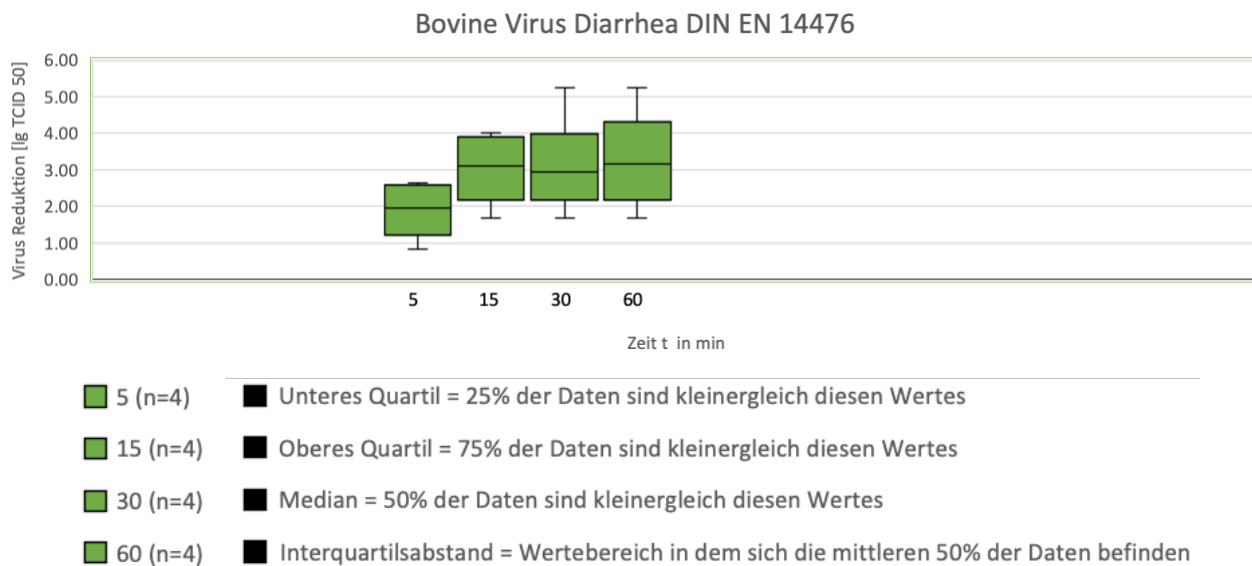


Abb. 8: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem BVDV aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Einwirkzeiten. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Bei dem BVDV sind sowohl nach DIN EN 14476 als auch nach DVV/RKI die Anzahl der Messwiederholungen zu den jeweiligen Zeitintervallen gleichmäßig verteilt. Dennoch ist die absolute Anzahl an Messwiederholungen nach Testmethode DVV/RKI zu allen Einwirkzeiten deutlich höher. Bei einem direkten Vergleich der durchschnittlichen Reduktion, sowie der Interquartilsabstände nach Methode DIN EN 14476 und DVV/RKI ist auffällig, dass die durchschnittlichen Reduktionsstufen nach DVV/RKI deutlich niedrigere Werte zeigen und über einen deutlich engeren Interquartilsabstand verfügen als nach DIN EN 14476. Hier liegen die durchschnittlichen RF unter Testmethode DIN EN 14476 nach 5 min bei 1,96 lg-Stufen, nach 15 min bei 3,1 lg-Stufen, nach 30 min bei 2.96 lg-Stufen und nach 60 min bei 3,17 lg-Stufen. Hingegen die durchschnittlichen RF nach DVV/RKI nach 5 min 1,13 lg-Stufen, nach 15 min 1,5 lg-Stufen, nach 30 min 1,63 lg-Stufen und nach 60 min 1,88 lg-Stufen aufweisen.

Die Interquartilsabstände erstrecken sich nach DIN EN 14476 nach 5 min über 1,39 lg-Stufen, nach 15 min über 1,74 lg-Stufen, nach 30 min über 1,83 lg-Stufen und nach 60 min über 2,15 lg-Stufen. Nach DVV/RKI erstrecken sich die Interquartilsabstände nach 5 min über 0,62 lg-Stufen, nach 15 min über 0,7 lg-Stufen, nach 30 min über 0,75 lg-Stufen und nach 60 min über 0,85 lg-Stufen.

Die größere Streuung nach DIN EN 14476 könnte durch die deutlich niedrigeren Messwiederholungen erklärt werden. (Abb. 7 und 8)

3.2.2 Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF der BVDV separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden werden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren gut sichtbar darstellen.

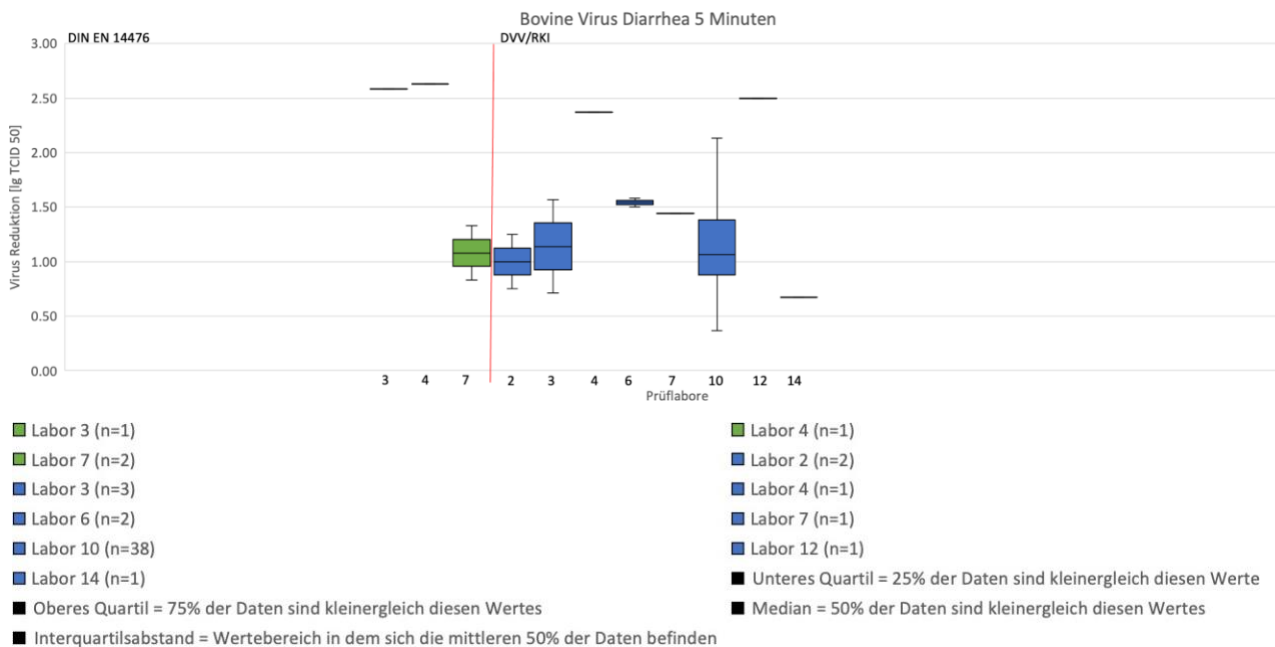


Abb. 9a: Virusreduktionen für BVDV als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

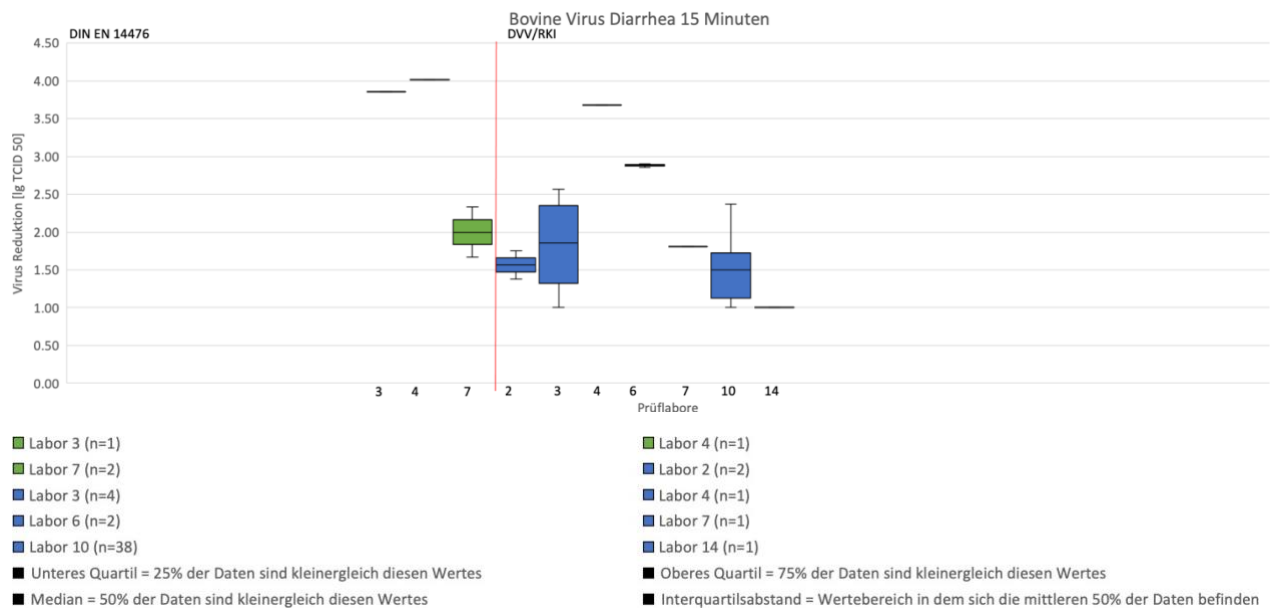


Abb. 9b: Virusreduktionen für BVDV als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

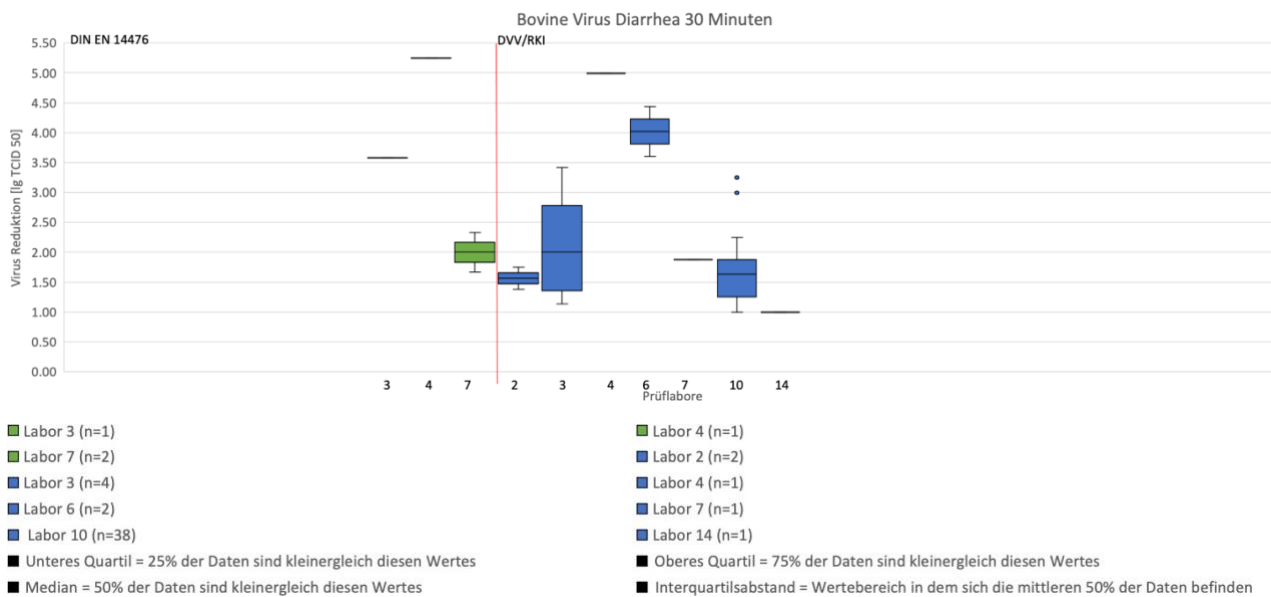


Abb. 9c: Virusreduktionen für BVDV als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

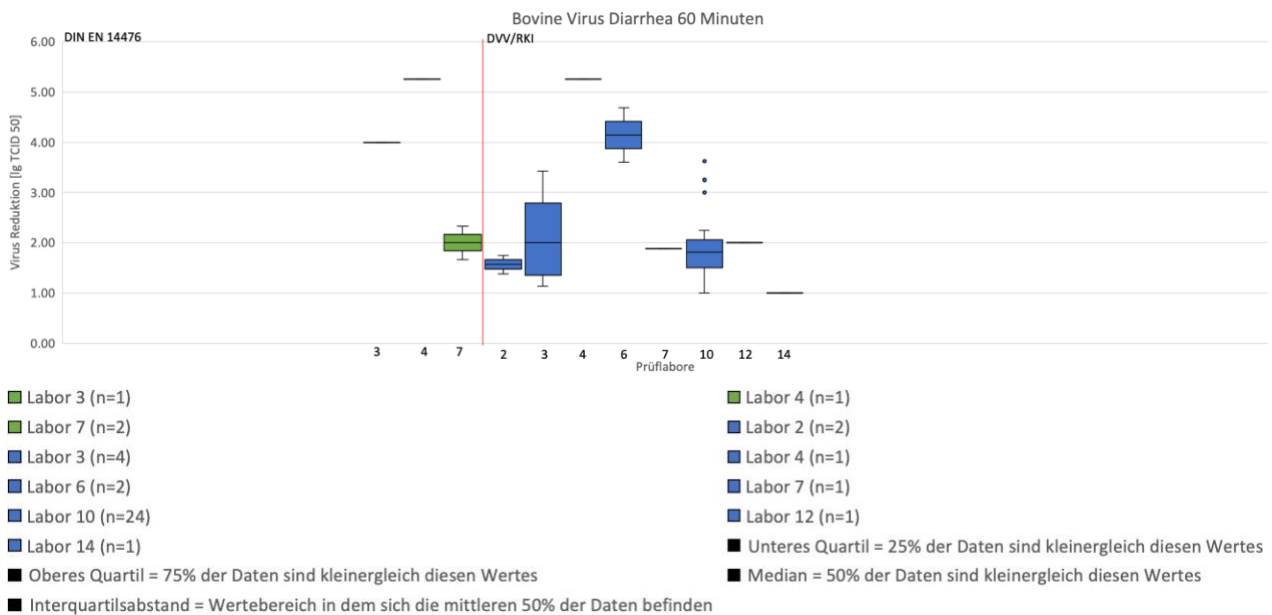


Abb. 9d: Virusreduktionen für BVDV als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 9a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem BVDV aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 9a), 15 min (Abb. 9b), 30 min (Abb. 9c) und 60 min (Abb. 9d) in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus den Abb. 9a – d geht hervor, dass Prüflabor 3, 4 und 7 nach DIN EN 14476 zu jedem Zeitpunkt höhere durchschnittliche RF erzielte als nach der Methode des DVV/RKI. Einzige Ausnahme davon bildete Prüflabor 7 nach 5 min, dort war eine höhere durchschnittliche Reduktion nach DVV/RKI zu verzeichnen. Anhand genauer Messwerte werden die Unterschiede jetzt näher erläutert. So liegen die durchschnittlichen RF nach Testmethode DIN EN 14476 für Prüflabor 3 nach 5 min bei 2,58 Ig-Stufen, nach 15 min bei 3,86 Ig-Stufen, nach 30 min bei 3,58 Ig-Stufen und nach 60 min bei 4 Ig-Stufen. Hingegen die durchschnittlichen RF nach Testmethode DVV/RKI für Prüflabor 3 nach 5 min bei 1,14 Ig-Stufen, nach 15 min bei 1,86 Ig-Stufen, nach 30 und 60 min bei 2 Ig-Stufen zeigen.

Die durchschnittlichen RF betragen für Prüflabor 4 nach Testmethode DIN EN 14476 nach 5 min 2,63 Ig-Stufen, nach 15 min 4,02 Ig-Stufen, nach 30 und 60 min 5,25 Ig-Stufen und nach Testmethode DVV/RKI betragen sie nach 5 min 2,37 Ig-Stufen, nach 15 min 3,68 Ig-

Stufen, nach 30 min 4,99 Ig-Stufen und nach 60 min 5,26 Ig-Stufen. Für Prüflabor 7 liegen die durchschnittlichen RF nach DIN EN 14476 nach 5 min bei 1,08 Ig-Stufen, nach 15, 30 und 60 min bei 2 Ig-Stufen. Hingegen liegen die durchschnittlichen RF für dasselbe Prüflabor nach DVV/RKI nach 5 min bei 1,44 Ig-Stufen und nach 15 min bei 1,81 Ig-Stufen, nach 30 und 60 min bei 1,88 Ig-Stufen und somit etwas niedriger als nach DIN EN 14476.

3.2.3 Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF der BVDV bei Anwendung unterschiedlicher Zellkultursysteme ermittelt und je nach Art der Testmethode in Abb. 10 und Abb. 11 getrennt dargestellt. Dies ermöglicht erste Vergleiche wie sich der RF bei unterschiedlichen Zellkulturen unter verschiedenen Testbedingungen verhält. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme nach Einwirkzeit berechnet, und weiter in Abb. 12a – d dargestellt. Aussagen bezüglich Einflussnahmen auf den RF können somit weiter präzisiert werden.

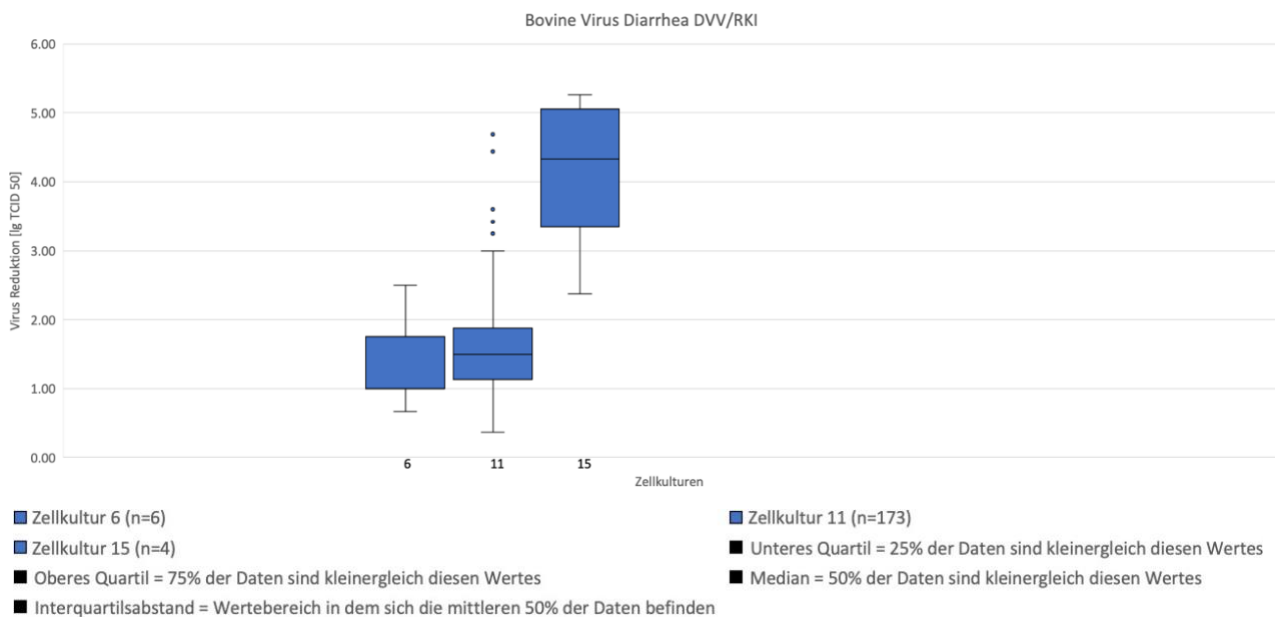


Abb. 10: Verteilung der Ergebnisse aus den Suspensionsversuch Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die verwendeten Zellkulturen bei der Züchtung des BVDV. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

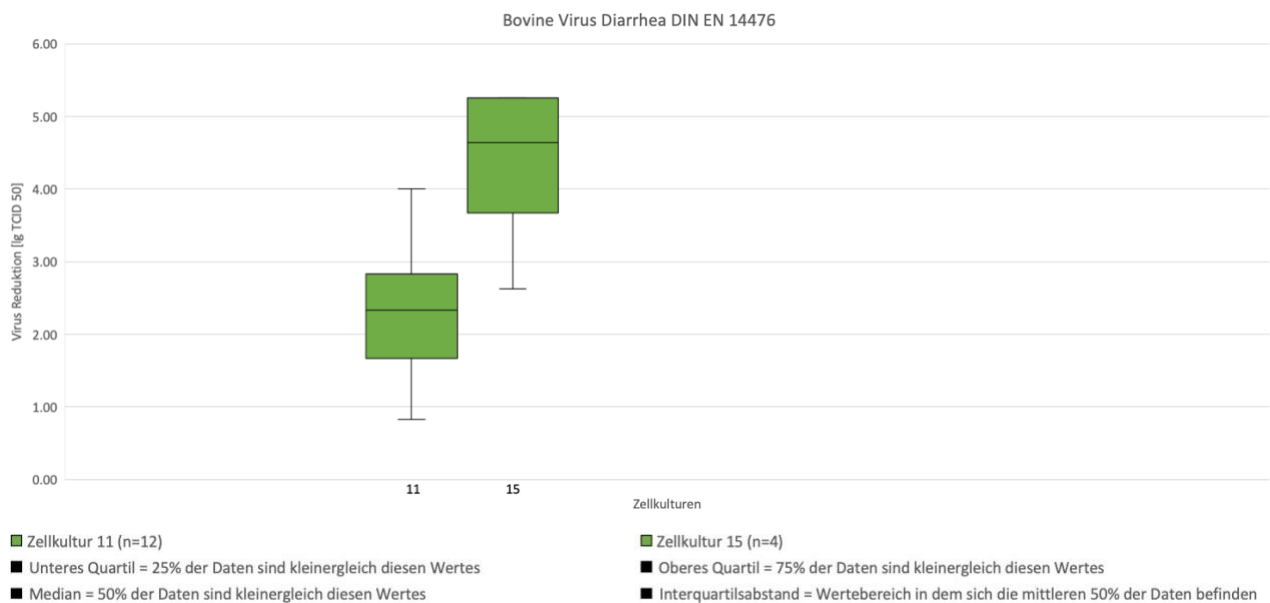


Abb. 11: Verteilung der Ergebnisse aus den Suspensionsversuch Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die verwendeten Zellkulturen bei der Züchtung des BVDV. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Das BVDV wurde für die Durchführung der Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Zellkultur 6, 11 und 15 und nach DIN EN 14667 in Zellkultur 11 und 15 gezüchtet. Zu den Versuchen nach DIN EN 14476 lagen keine Daten für die Zellkultur 6 vor.

Aus Abb. 10 und 11 wird sichtbar, dass die Mehrheit des BVDV in Zellkultur 11 gezüchtet und ein Großteil der Versuche nach den Richtlinien der DVV/RKI durchgeführt wurden. Nach DVV/RKI fiel die durchschnittliche Reduktion sowie der Interquartilsabstand bei dem BVDV aus Zellkultur 11 geringer aus als nach DIN EN 14476. So liegt der durchschnittliche RF für Zellkultur 11 nach DIN EN 14476 bei 2.33 lg-Stufen und nach DVV/RKI bei nur 1.5 lg-Stufen. Der Interquartilsabstand erstreckt sich nach DIN EN 14476 über 1.16 lg-Stufen und nach DVV RKI über 0.75 lg-Stufen. Bei Zellkultur 15 fällt die durchschnittliche Reduktion bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 mit 4.64 lg-Stufen etwas höher als nach DVV/RKI, die bei 4.34 lg-Stufen liegt.

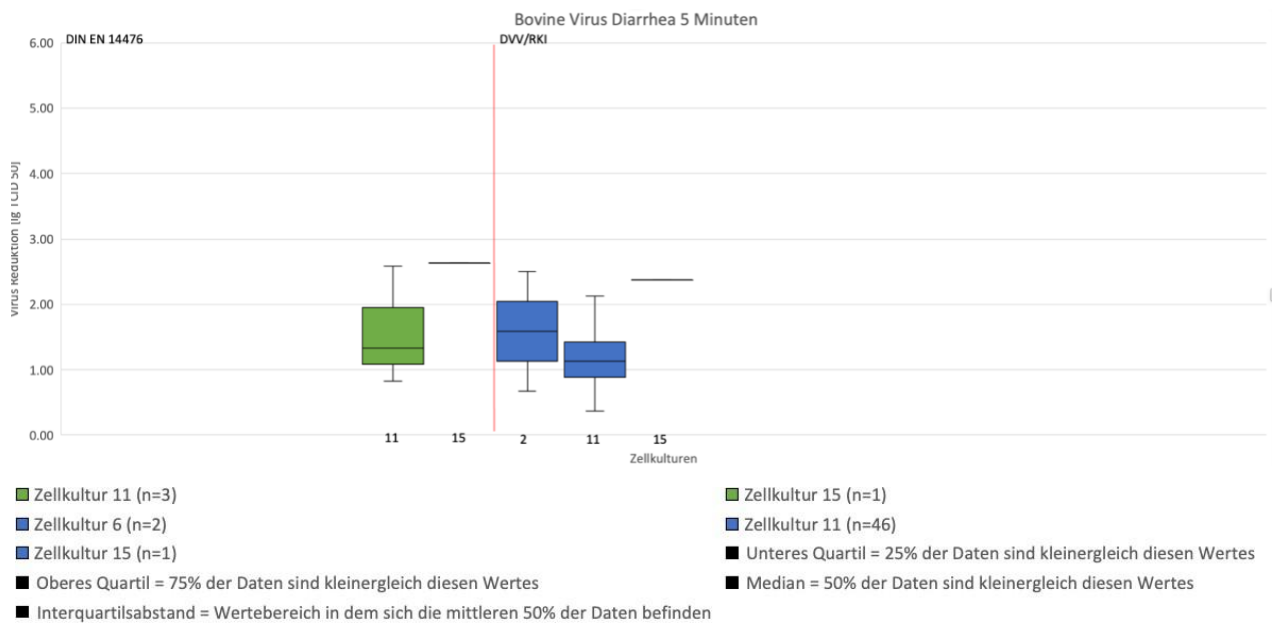


Abb. 12a: Virusreduktionen für BVDV als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

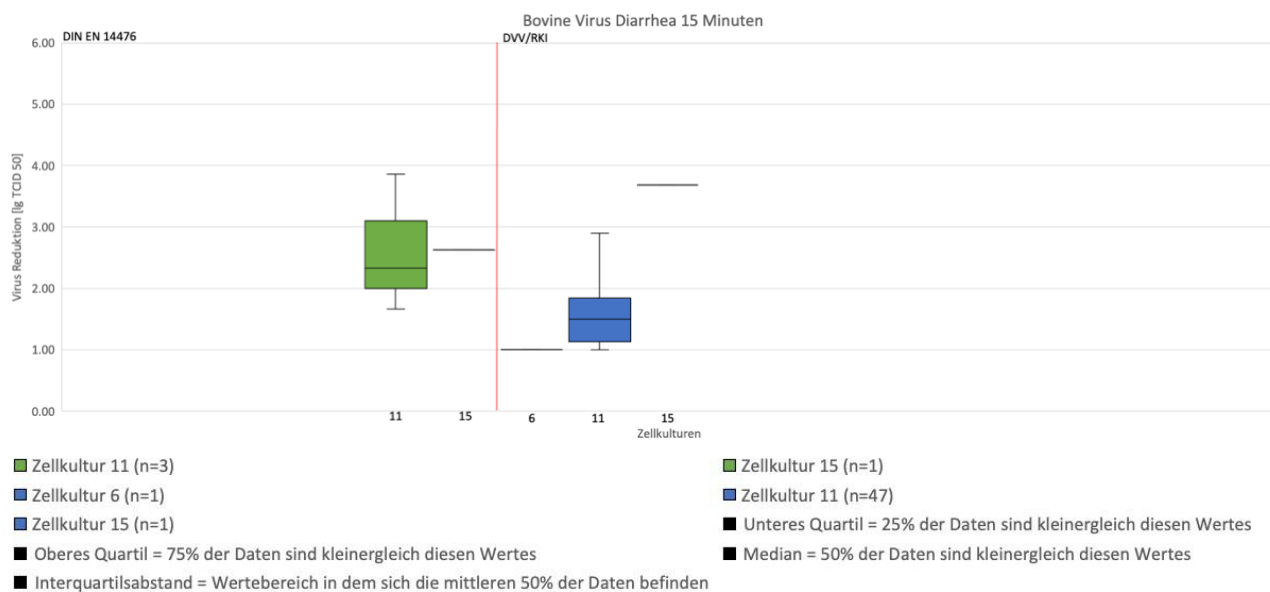


Abb. 12b : Virusreduktionen für BVDV als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

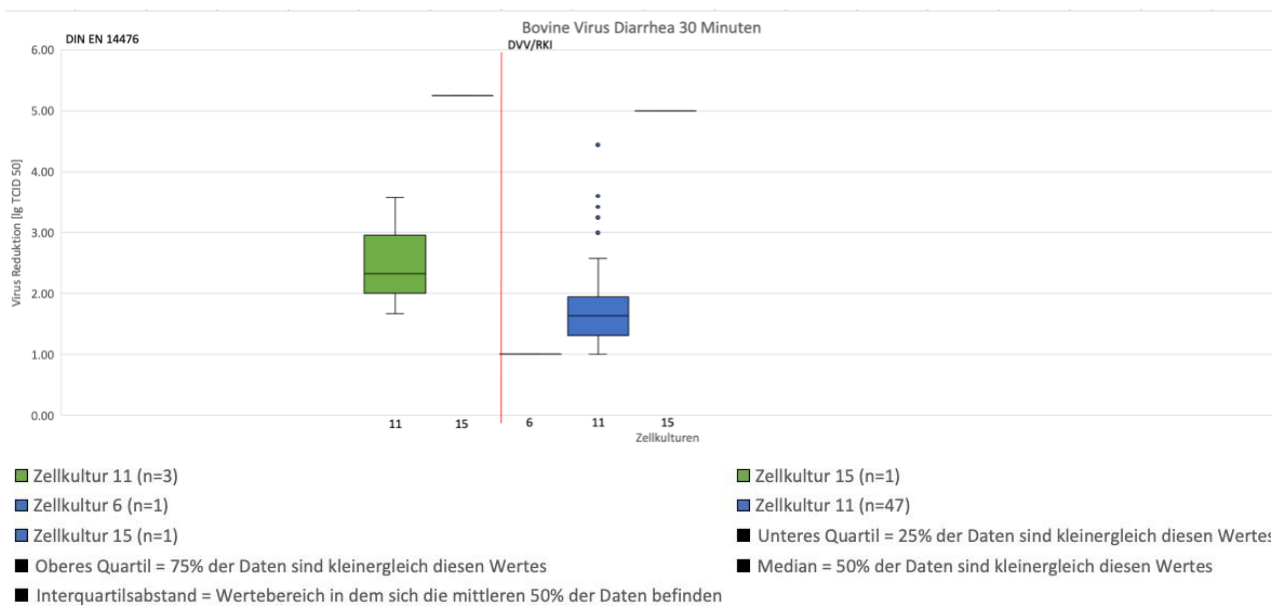


Abb. 12c : Virusreduktionen für BVDV als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

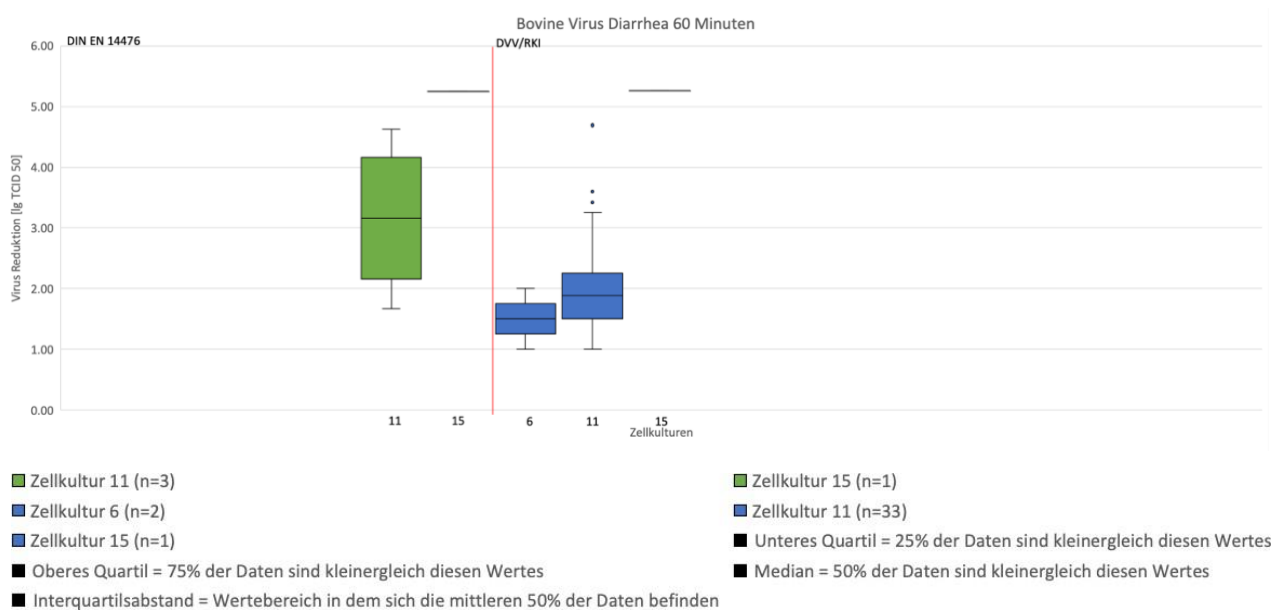


Abb. 12d : Virusreduktionen für BVDV als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 12a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem BVDV aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 12a), 15 min (Abb. 12b), 30 min (Abb. 12c) und 60 min (Abb. 12d) in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Abb. 12a - d zeigen, dass sowohl die Interquartilsabstände als auch die durchschnittlichen RF bei Zellkultur 11 nach DIN EN 14476 stets größer ausfallen als nach DVV/RKI. So liegt der durchschnittliche RF für Zellkultur 11 nach DIN EN 14476 nach 5 min bei 1,33 Ig-Stufen, nach 15 und 30 min bei 2,33 Ig-Stufen, nach 60 min bei 3,17 Ig-Stufen. Hingegen der durchschnittliche RF nach DVV/RKI nach 5 min bei 1,13 Ig-Stufen, nach 15 min bei 1,5 Ig-Stufen, nach 30 min bei 1,63 Ig-Stufen und nach 60 min bei 1,88 Ig-Stufen aufweist.

3.2.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem BVDV die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkomma Stellen genau angegeben. (Tab. 8,9)

Tab. 8: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des BVDV für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI.

Virus	Bovine Viral Diarrhoe Virus			
Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.18061224	1.61040816	1.85346939	2.10527778
Standardabweichung	0.4810553	0.58136319	0.87865084	1.02054183
Stichprobengröße n	49	49	49	36
Standardfehler	0.06872219	0.08305188	0.12552155	0.17009031
Fehlergröße	0.13469273	0.16277837	0.24601721	0.3333702
95 % Konfidenzintervall	1.05 – 1.32	1.45 – 1.76	1.61 – 2.1	1.76 – 2.44

Tab. 9: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des BVDV für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476.

Virus	Bovine Viral Diarrhoe Virus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.8425	2.97	3.2075	3.3125
Standardabweichung	0.90404185	1.15386308	1.57527511	1.62169407
Stichprobengröße n	4	4	4	4
Standardfehler	0.45202093	0.57693154	0.78763755	0.81084704
Fehlergröße	0.88594293	1.13076274	1.5437381	1.58922776
95 % Konfidenzintervall	0.96 – 2.73	1.84 – 4.10	1.65 – 4.75	1.72 – 4.90

3.2.5. Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die durchschnittliche Reduktion des BVDV bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 durch die Wahl des Testdesigns fiel auf, dass die Daten der Prüflabore so schlecht verteilt waren, dass diese zusammengefasst als numerische Variabel in das Regressionsmodell einfließen und somit ihr Effekt als linear zu interpretieren galt. Bei der Auswertung der Ergebnisse bei der Wahl der Zellkultur, konnte ebenfalls kein Einfluss nachgewiesen werden. Nur nach Methode DVV/RKI schienen Zellkultur 15 einen Einfluss auf die Reduktion zu nehmen. Trotz der niedrigen Anzahl an Messwiederholungen konnte die Null-Hypothese zu 99,19% abgelehnt werden. Die dazugehörigen Konfidenzintervalle sind in A4 (siehe Anhang) dargestellt. Wie aus A3 (siehe Anhang) zu entnehmen ist, konnte bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 kein Einfluss durch Zellkulturen oder Prüflabore nachgewiesen werden.

3.3 Murines Parvovirus

Die bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem Murinen Parvovirus, werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf (unter 3.3.1) betrachtet und weiterführend dann nach verwendeten Prüflaboren (unter 3.3.2) und Zellkultursystemen (unter 3.3.3) einander gegenübergestellt.

3.3.1 Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit

In den folgenden Abbildungen wurden für die Suspensionsversuche mit dem Murinen Parvovirus die mittleren RF zu den jeweiligen Zeit Intervallen gemittelt und nach Testmethode aufgeteilt. So lässt sich den Abbildungen der mittlere RF für DIN EN 14476 und DVV/RKI nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min ablesen.

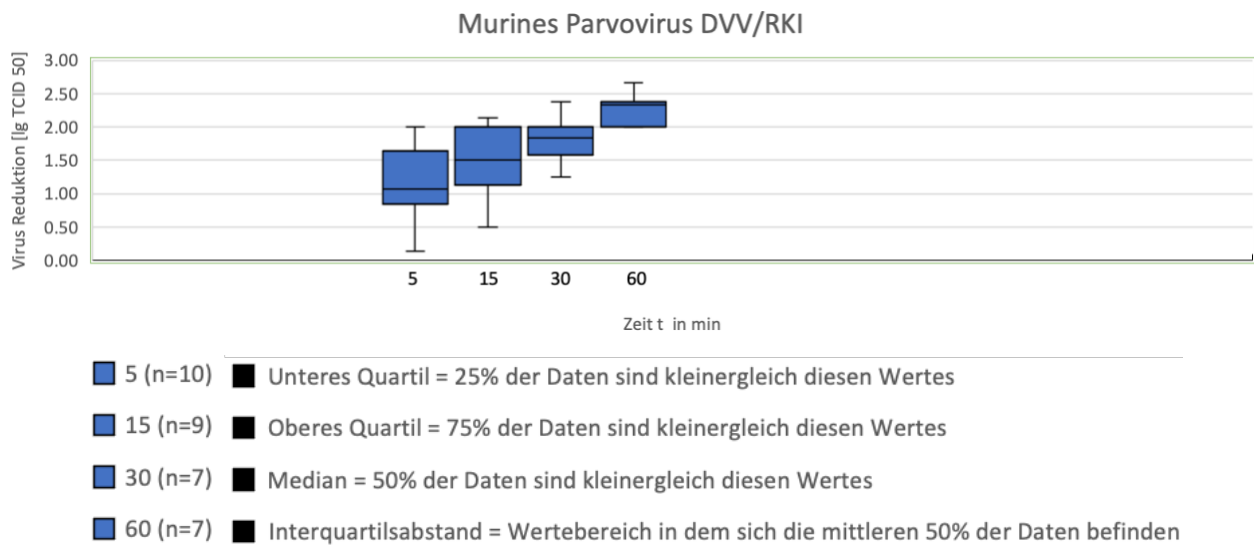


Abb. 13: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Parvovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Einwirkzeiten. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

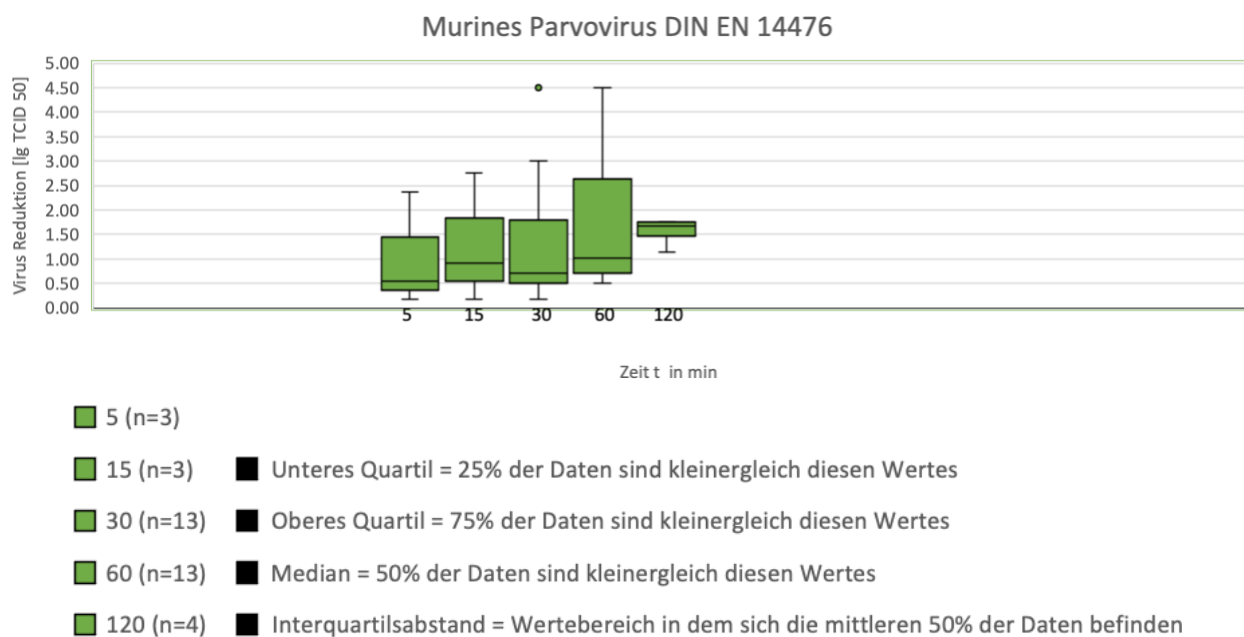


Abb. 14: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Parvovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Einwirkzeiten. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Bei der Durchführung der Versuche mit dem Parvovirus lag bei beiden Methoden eine vergleichbare Anzahl an Datensätzen vor. Abb. 13 und 14 zeigen, dass die durchschnittliche Reduktion im Laufe der Zeit nach DVV/RKI stets höher ausfiel als nach DIN EN 14476. So liegt der durchschnittliche RF des Murinen Parvovirus nach DIN EN 14476 nach 5 min bei 0,54 lg-Stufen, nach 15 min bei 0,92 lg-Stufen, nach 30 min bei 0,7

Ig-Stufen, nach 60 min bei 1,01 Ig-Stufen und nach 120 min bei 1,67 Ig-Stufen. Im Vergleich liegen die durchschnittlichen RF nach DVV/RKI nach 5 min bei 1,07 Ig-Stufen, nach 15 min bei 1,5 Ig-Stufen, nach 30 min bei 1,83 Ig-Stufen und nach 60 min bei 2,33 Ig-Stufen. Ebenso auffällig ist, dass die Interquartilsabstände nach DVV/RKI kleiner sind als nach der Methode DIN EN 14476. Die Interquartilsabstände betragen nach DVV/RKI bei 5 min 0,81 Ig-Stufen, bei 15 min 0,87 Ig-Stufen, bei 30 min 0,42 Ig-Stufen und nach 60 min 0,38 Ig-Stufen. Dagegen betragen die Interquartilsabstände nach DIN EN 14476 bei 5 min 1,1 Ig-Stufen, bei 15 min 1,29 Ig-Stufen, bei 30 min 1,29 Ig-Stufen, bei 60 min 1,92 Ig-Stufen und bei 120 min 0,28 Ig-Stufen. Zusätzlich war bei Methode DIN EN 14476 bei 30 min die durchschnittliche Reduktion rückläufig.

3.3.2 Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF des Murinen Parvovirus separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden werden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren gut sichtbar darstellen.

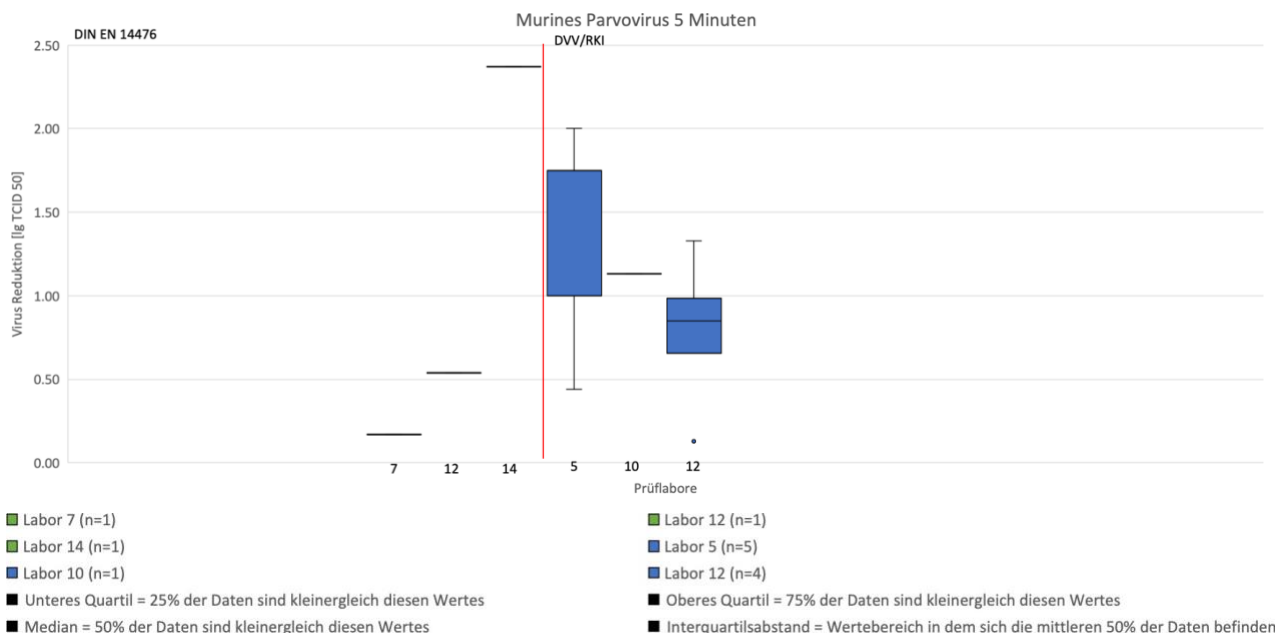


Abb. 15a : Virusreduktionen für Murines Parvovirus als Ig TCID50 der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

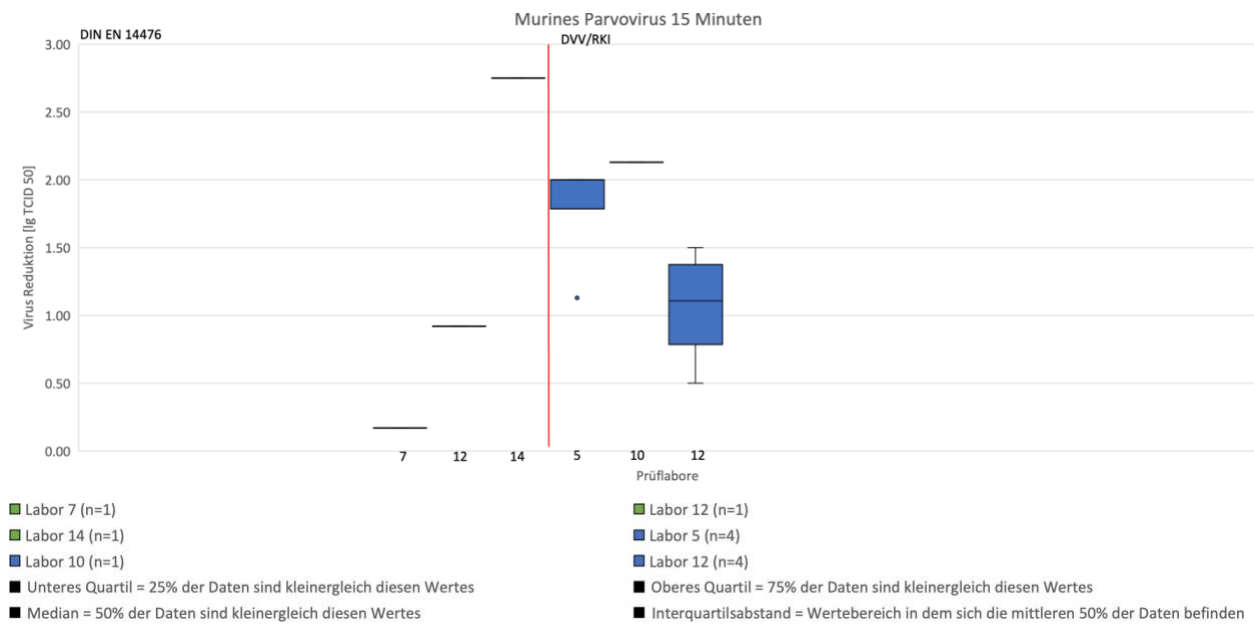


Abb. 15b: Virusreduktionen für Murines Parvovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

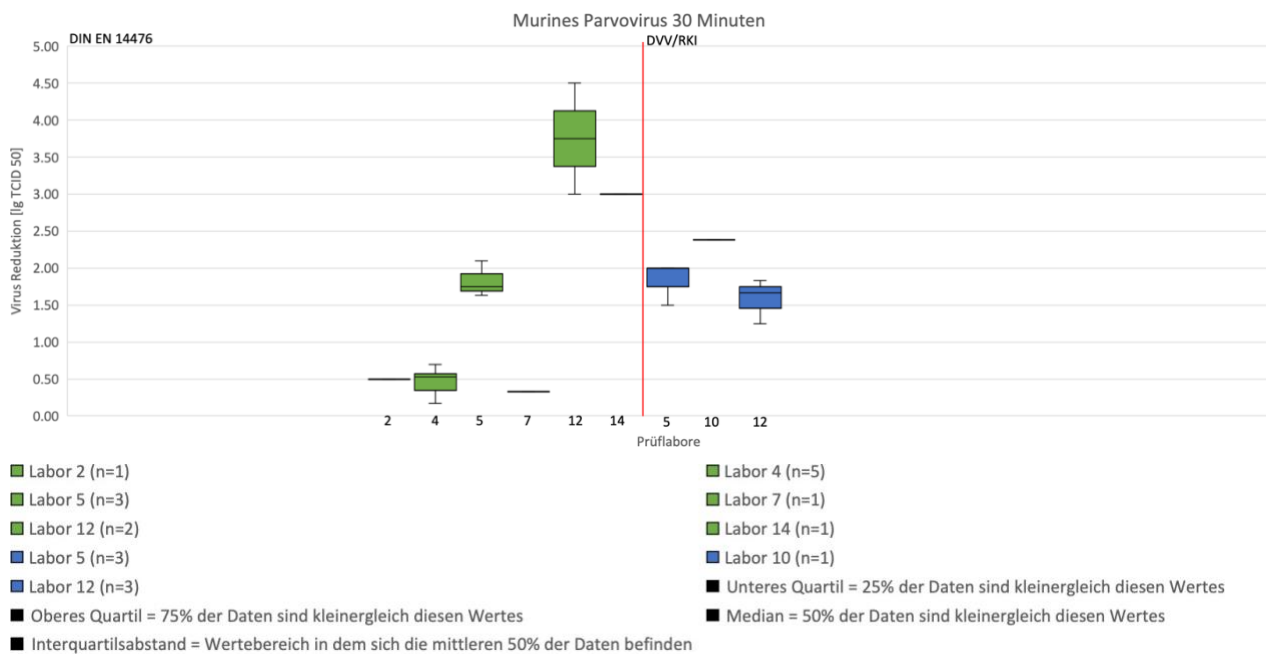


Abb. 15c: Virusreduktionen für Murines Parvovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

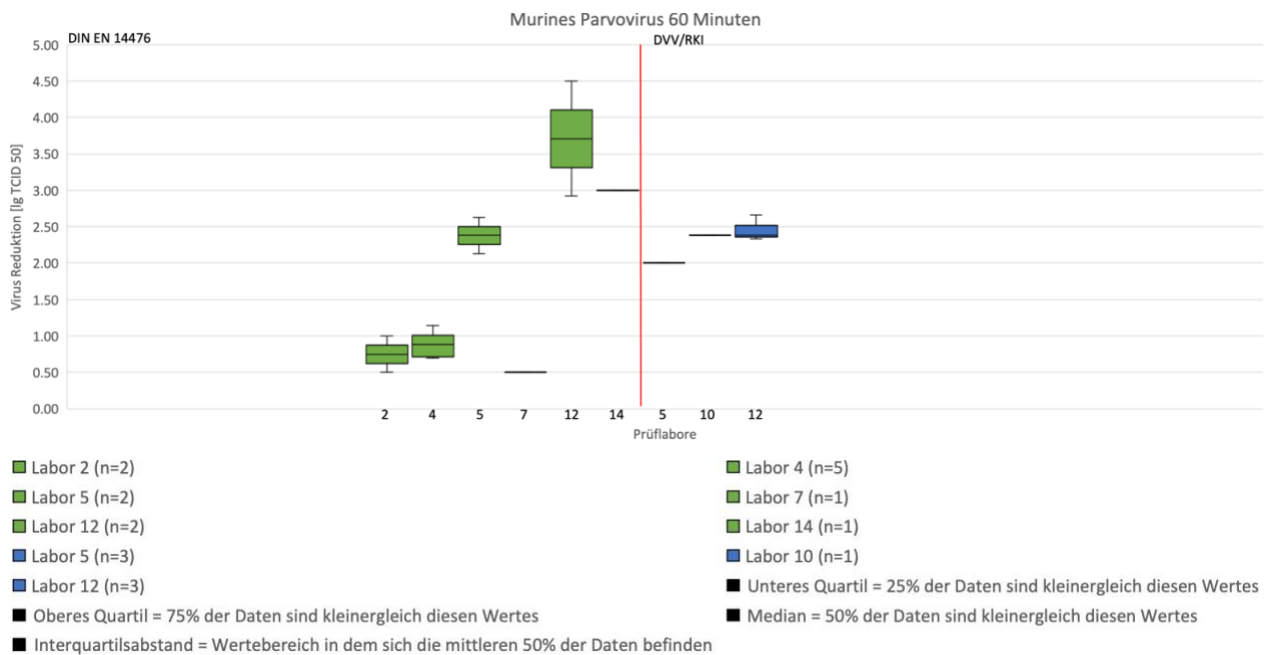


Abb. 15d: Virusreduktionen für Murines Parvovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 15a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Parvovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 (Abb. 15a), 15 (Abb. 15b), 30 (Abb. 15c) und nach 60 (Abb. 15d) min in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus den Abb. 15a - d geht hervor, dass die Versuche, die nach Methode DIN EN 14476 in Prüflabor 12 durchgeführt wurden, bei 5 min und 15 min eine deutlich niedrigere durchschnittliche Reduktion erzielen als nach Methode DVV/RKI. Der durchschnittliche RF für Prüflabor 12 nach DIN EN 14476 liegt nach 5 min bei 0,54 lg-Stufen und nach 15 min bei 0,92 lg-Stufen. Hingegen liegt der durchschnittliche RF nach DVV/RKI nach 5 min bei 0,85 lg-Stufen und nach 15 min bei 1,11 lg-Stufe.

Nach 30 min und 60 min hingegen weisen die Suspensionsversuche aus diesem Prüflabor nach DIN EN 14476 eine höhere durchschnittliche Reduktion mit einer wesentlich breiteren Streuung auf. So liegen dort die durchschnittlichen Reduktionen nach DIN EN 14476 bei 3,75 lg-Stufen für 30 min und bei 3,71 lg-Stufen für 60 min. Bei der Testmethode DVV/RKI liegt die durchschnittliche Reduktion bei 1,66 lg-Stufen für 30 min und bei 2,38 lg-Stufen für 60 min.

Wie aus den Abb. 15a und b zu entnehmen ist, liegen für Prüflabor 5 nach 5 min und 15 min bei Methode DIN EN 14476 keine Ergebnisse vor. Der durchschnittliche RF von Prüflabor 5 ist nach 30 min nach Prüfmethode DVV/RKI um 0,25 Ig-Stufen größer als nach DIN EN 14476. Nach 60 min ist der durchschnittliche RF nach Prüfmethode DIN EN 14476 mit 2,38 Ig-Stufen etwas größer als nach DVV/RKI, welcher 2 Ig-Stufen beträgt.

3.3.3 Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF des Murinen Parvovirus aus den verschiedenen Zellkultursysteme gemittelt und auf die verwendeten Testmethoden aufgeteilt. Dies ermöglicht erste Vergleiche zwischen den Zellkultursystemen und wie diese sich unter verschiedenen Testmethoden verhalten. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme für die einzelnen Zeitintervalle berechnet, sodass sich ggf. präzisere Vergleiche bzw. Aussagen treffen lassen können.

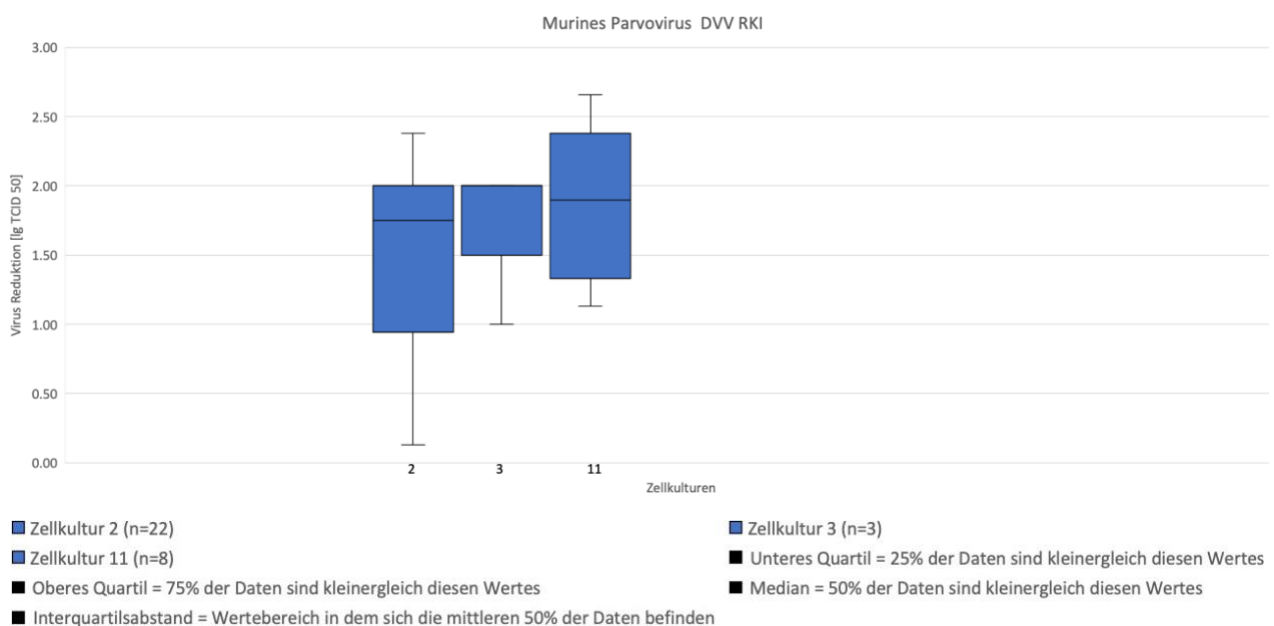


Abb. 16: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Parvovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

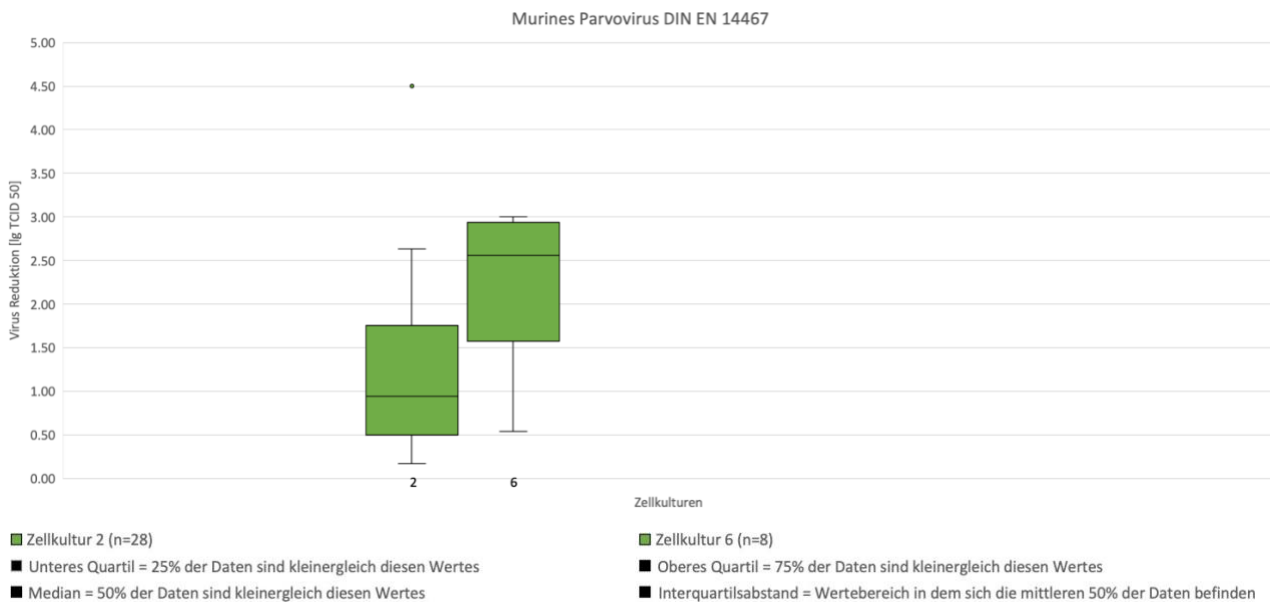


Abb. 17: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Parvovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Sowohl nach Methode DIN EN 14476 als auch nach Methode DVV/RKI wurden das Murinen Parvovirus hauptsächlich in Zellkultur 2 gezüchtet. Die durchschnittliche Reduktion fällt in Zellkultur 2 nach DIN EN 14476 mit 0,94 Ig-Stufen deutlich geringer aus als nach Prüfmethode DVV/RKI, wo diese 1,75 Ig-Stufen beträgt. Ebenso beträgt der Interquartilsabstand nach DIN EN 14476 1,25 Ig-Stufen und ist somit geringer als der Interquartilsabstand nach DVV/RKI, welcher 1,06 Ig-Stufen beträgt. (Abb. 16 und 17)

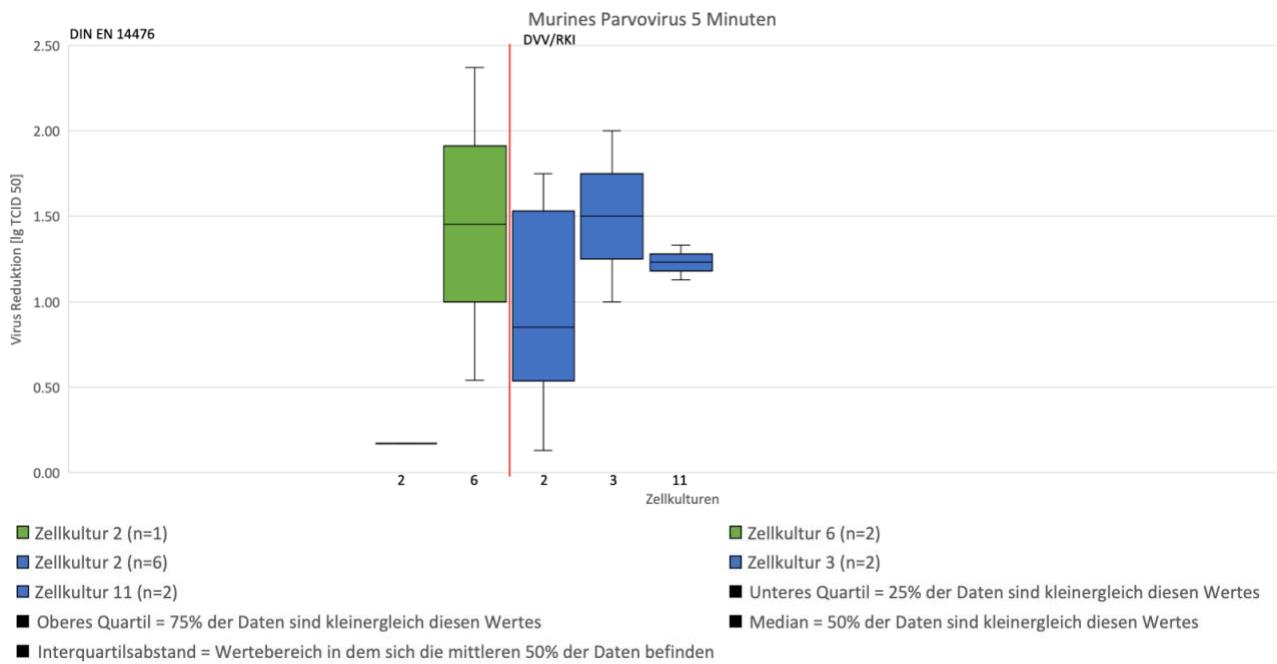


Abb. 18a : Virusreduktionen für Murines Parvovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

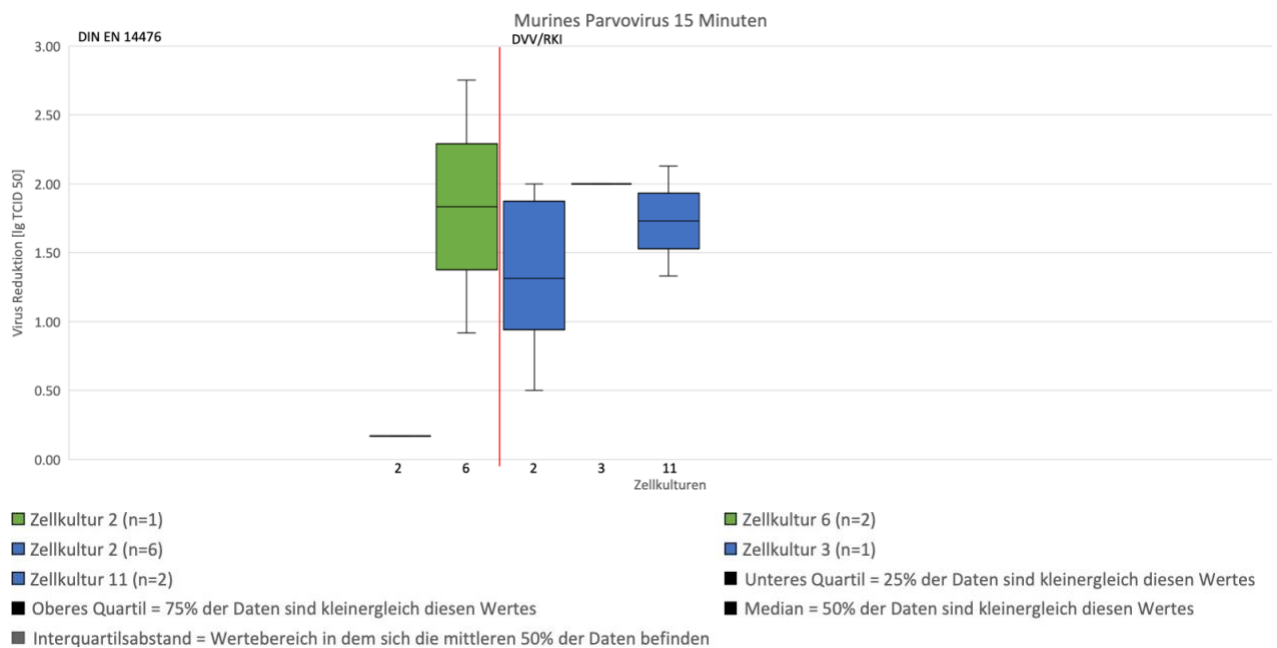


Abb. 18b: Virusreduktionen für Murines Parvovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

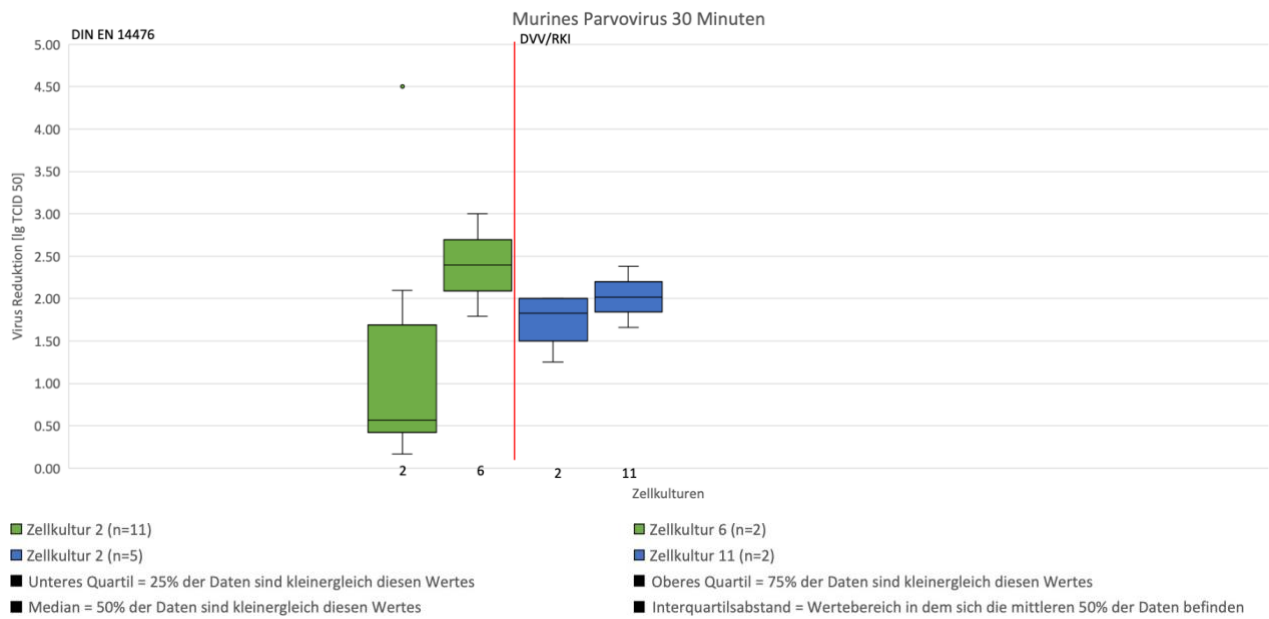


Abb. 18c: Virusreduktionen für Murines Parvovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

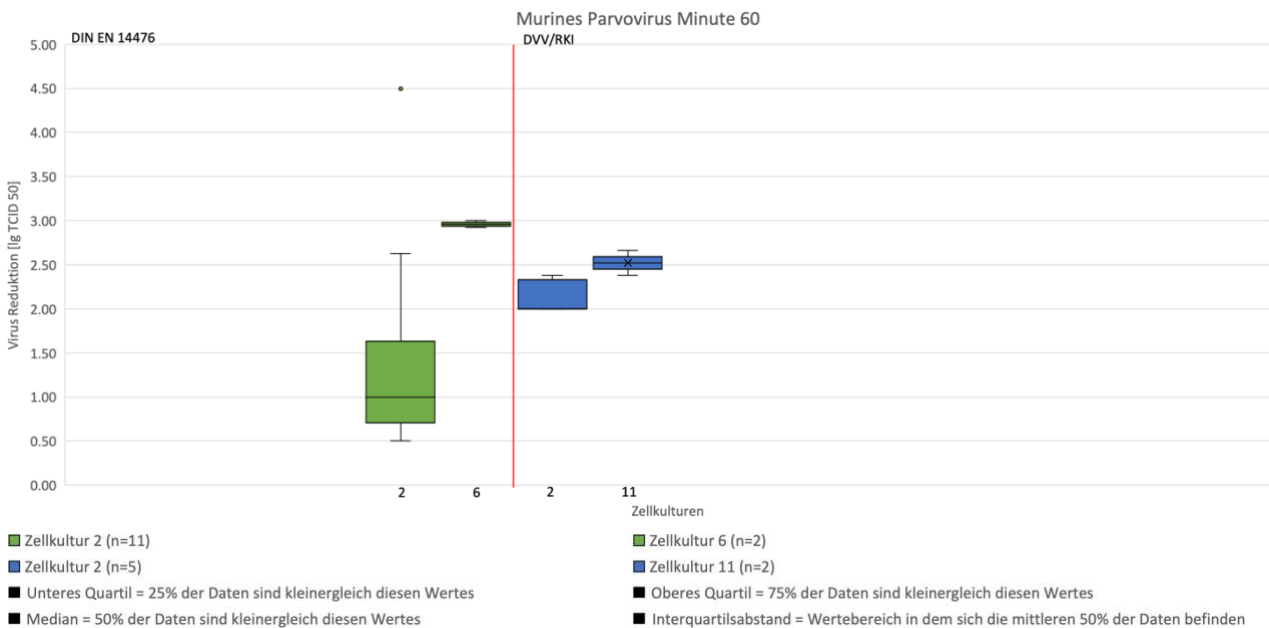


Abb. 18d: Virusreduktionen für Murines Parvovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 18a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Parvovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 18a), 15 min (Abb. 18b), 30 min (Abb. 18c) und nach 60 min (Abb. 18d) in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Die Abb. 18a – d verdeutlichen, dass die Werte der durchschnittlichen Reduktion des Murinen Parvovirus die nach DIN EN 14476 in Zellkultur 2 gezüchtet wurden, bei allen Zeitintervallen konstant niedriger ausfielen als nach Methode DVV/RKI. So liegen die durchschnittlichen RF für Zellkultur 2 nach DIN EN 14476 für 5 und 15 min bei 0,17 Ig-Stufen, für 30 min bei 0,57 Ig-Stufen und für 60 min bei 1 Ig Stufe. Hingegen liegen die durchschnittlichen RF für Zellkultur 2 nach DVV/RKI für 5 min bei 0,85 Ig-Stufen, für 15 min bei 1,32 Ig-Stufen, für 30 min bei 1,83 Ig-Stufen und für 60 min bei 2 Ig-Stufen.

Die Interquartilsabstände waren bei Zellkultur 2 nach DIN EN 14467 bei 5 min und 15 min ebenfalls kleiner als die Vergleichswerte des DVV/RKI, was sich darauf zurückführen lässt, dass jeweils nur eine Messwiederholung vorliegt.

Allerdings änderte sich dieser Sachverhalt nach 30 min und 60 min, da bei diesen Zeitintervallen mehr Messwiederholungen vorliegen.

3.3.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervallen

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Murinen Parvovirus die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkommastellen genau angegeben. (Tab. 10, 11)

Tab. 10: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Murinen Parvovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI.

Virus	Murines Parvovirus			
Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.123	1.49666667	1.80285714	2.25
Standardabweichung	0.59775599	0.58062466	0.37178463	0.25683977
Stichprobengröße n	10	9	7	7
Standardfehler	0.18902704	0.19354155	0.14052138	0.09707631
Fehlergröße	0.37048544	0.37933371	0.27541629	0.19026568
95 % Konfidenzintervall	0.75 – 1.49	1.12 – 1.88	1.53 – 2.08	2.06 – 2.44

Tab. 11: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Murinen Parvovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476.

Virus	Murines Parvovirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.02666667	1.28	1.37846154	1.66307692
Standardabweichung	1.17797849	1.32713978	1.2743485	1.25375027
Stichprobengröße n	3	3	13	13
Standardfehler	0.6801062	0.76622451	0.35344068	0.34772776
Fehlergröße	1.33298095	1.50176939	0.6927296	0.6815325
95 % Konfidenzintervall	-0.31 – 2.36	-0.22 – 2.78	0.69 – 2.07	0.98 – 2.34

3.3.5 Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die durchschnittliche Reduktion des Murinen Parvovirus bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 durch die Wahl des Testdesigns war nach DIN EN 14476 die Datenlage bezüglich der Zellkulturen unzureichend, sodass diese zusammengefasst als numerische Variabel in das Regressionsmodell mit eingeflossen sind und somit ihr Effekt als linear zu interpretieren galt. Dennoch zeigte sich, dass der P-Wert der Zellkulturen 0,0009 betrug und somit die Zellkulturen nach DIN EN 14476 in 99,91% einen Einfluss auf die durchschnittliche Reduktion hatten. Leider konnte aufgrund der dürftigen Datenlage zwischen den einzelnen Zellkulturen nicht weiter differenziert werden. Bei Prüflabor 12 und Prüflabor 14 waren die P-Werte so verschwindend gering, dass diese auf 0 gerundet wurden und somit in nahezu 100% der Fälle einen Einfluss auf die Reduktion ausübten. Bei Prüflabor 5 lag der P-Wert bei 0,0017, sodass die Null-Hypothese in 99,83% der Fälle abgelehnt werden konnte. Die errechneten Konfidenzintervalle zu den Prüflaboren 5, 12 und 14 in Abhängigkeit der Zeitintervalle sind der Tab. 5 zu entnehmen. Bei der Untersuchung auf Einflussnahme auf die Reduktion des Murinen Parvovirus nach DVV/RKI konnten weder den Zellkulturen noch den Prüflaboren ein signifikanter Einfluss nachgewiesen werden. (A5 und A6 siehe Anhang)

3.4 Adenovirus

Die bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem Adenovirus, werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf (unter 3.4.1) betrachtet und weiterführend dann nach verwendeten Prüflaboren (unter 3.4.2) und Zellkultursystemen (unter 3.4.3) einander gegenübergestellt.

3.4.1 Adenovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit

In den folgenden Abb. 19 und Abb. 20 wurden für Suspensionsversuche mit dem Adenovirus die mittleren RF zu den jeweiligen Zeitintervallen ermittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt dargestellt. Somit ist der mittlere RF für die Prüfmethode nach DIN EN 14476 und DVV/RKI in Abb. 19 und Abb. 20 nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min deutlich ablesbar.

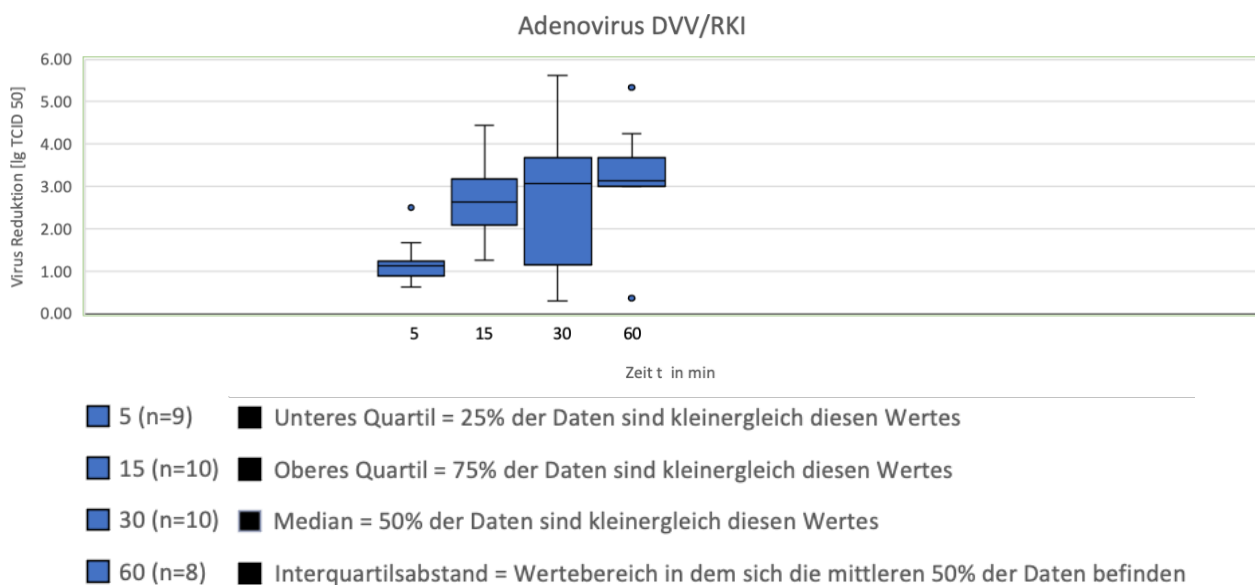


Abb. 19: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Adenovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Einwirkzeit. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

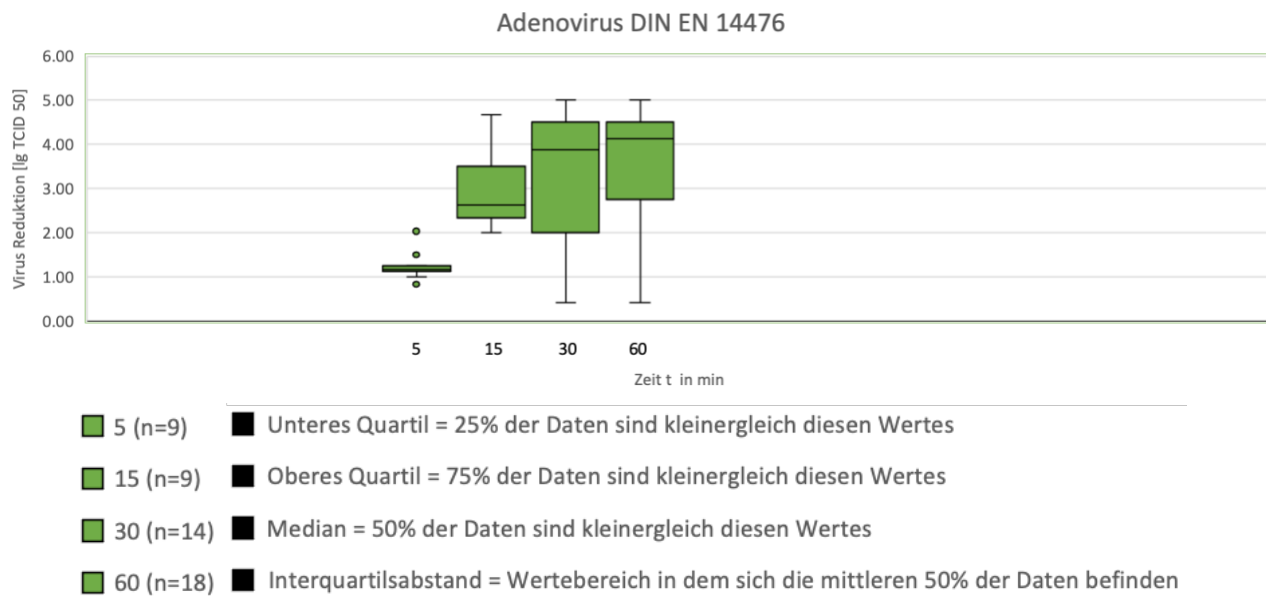


Abb. 20: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Adenovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Einwirkzeit. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Wie aus den Abb. 19 und 20 zu entnehmen ist, wurde bei den Versuchen mit dem Adenovirus nach Methode DIN EN 14476 und Methode DVV/RKI eine vergleichbar hohe Anzahl an Versuchen durchgeführt.

Zudem waren bei beiden Methoden die Interquartilsabstände bei gleichem Zeitintervall, mit Ausnahme nach 60 min, annähernd gleich und die Aufteilung der Messwiederholungen zu den einzelnen Zeitintervallen gut vergleichbar. So betragen die Interquartilsabstände nach 5 min für DIN EN 14476 0,13 lg-Stufen und für DVV/RKI 0,35 lg-Stufen. Nach 15 min betragen sie für DIN EN 14476 1,17 lg-Stufen und für DVV/RKI 1,08 lg-Stufen. Der Interquartilsabstand nach 30 min für DIN EN 14476 beträgt 2,49 lg-Stufen und für DVV/RKI 2,55 lg-Stufen. Nach 60 min erstreckt sich der Interquartilsabstand für DIN EN 14476 über 1,75 lg-Stufen, während für DVV/RKI der Interquartilsabstand sich über 0,69 lg-Stufen. Die durchschnittlichen Reduktionsstufen lagen sowohl nach DIN EN 14476 als auch nach DVV/RKI bei allen Zeiteinheiten sehr nah beieinander. Für das Adenovirus liegt der mittlere RF nach DIN EN 14476 nach 5 min bei 1,17 lg und nach DVV/RKI bei 1,13. Nach 15 min betragen die mittleren RF nach DIN EN 14476 nach 15 min bei 2,62 lg-Stufen und nach DVV/RKI bei 2,63. Nach 30 min lagen diese nach DIN EN 14476 bei 3,88 lg-Stufen und nach DVV/RKI bei 3,07 lg-Stufen. Die mittleren RF betragen nach 60 min nach DIN EN 14476 4,13 lg-Stufen. Zudem waren bei

beiden Methoden die Interquartilsabstände bei gleichem Zeitintervall, mit Ausnahme nach 60 min, annähernd gleich und die Aufteilung der Messwiederholungen zu den einzelnen Zeitintervallen gut vergleichbar. So betragen die Interquartilsabstände nach 5 min für DIN EN 14476 0,13 lg-Stufen und für DVV/RKI 0,35 lg-Stufen. Nach 15 min betragen sie für DIN EN 14476 1,17 lg-Stufen und für DVV/RKI 1,08 lg-Stufen. Der Interquartilsabstand nach 30 min für DIN EN 14476 beträgt 2,49 lg-Stufen und für DVV/RKI 2,55 lg-Stufen. Nach 60 min erstreckt sich der Interquartilsabstand für DIN EN 14476 über 1,75 lg-Stufen, während für DVV/RKI der Interquartilsabstand sich über 0,69 lg-Stufen erstreckt.

3.4.2 Adenovirus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF des Adenovirus separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden werden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren gut sichtbar darstellen.

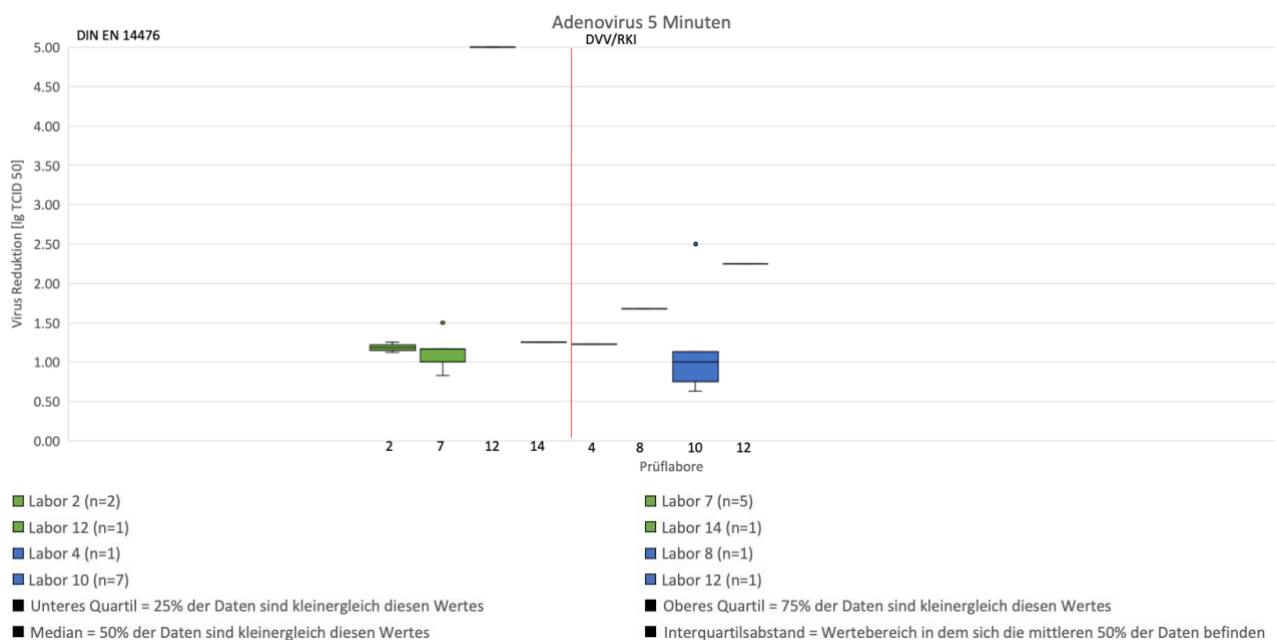


Abb. 21a : Virusreduktionen für Adenovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

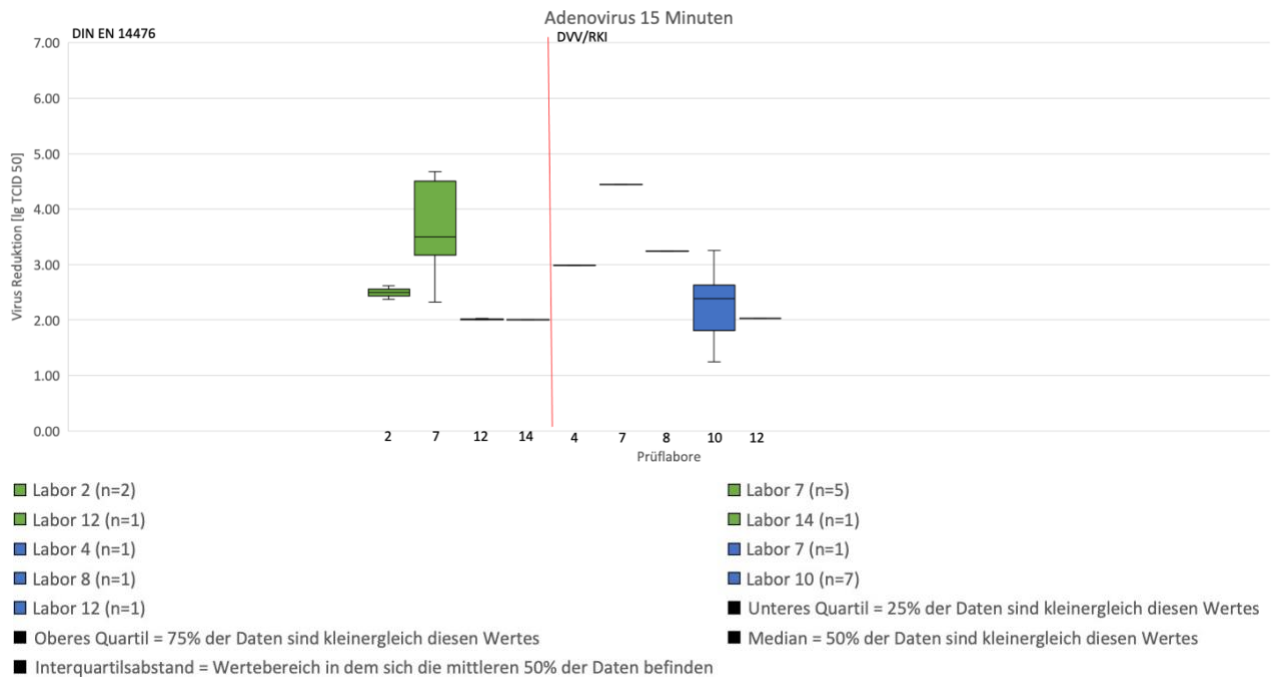


Abb. 21b: Virusreduktionen für Adenovirus Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

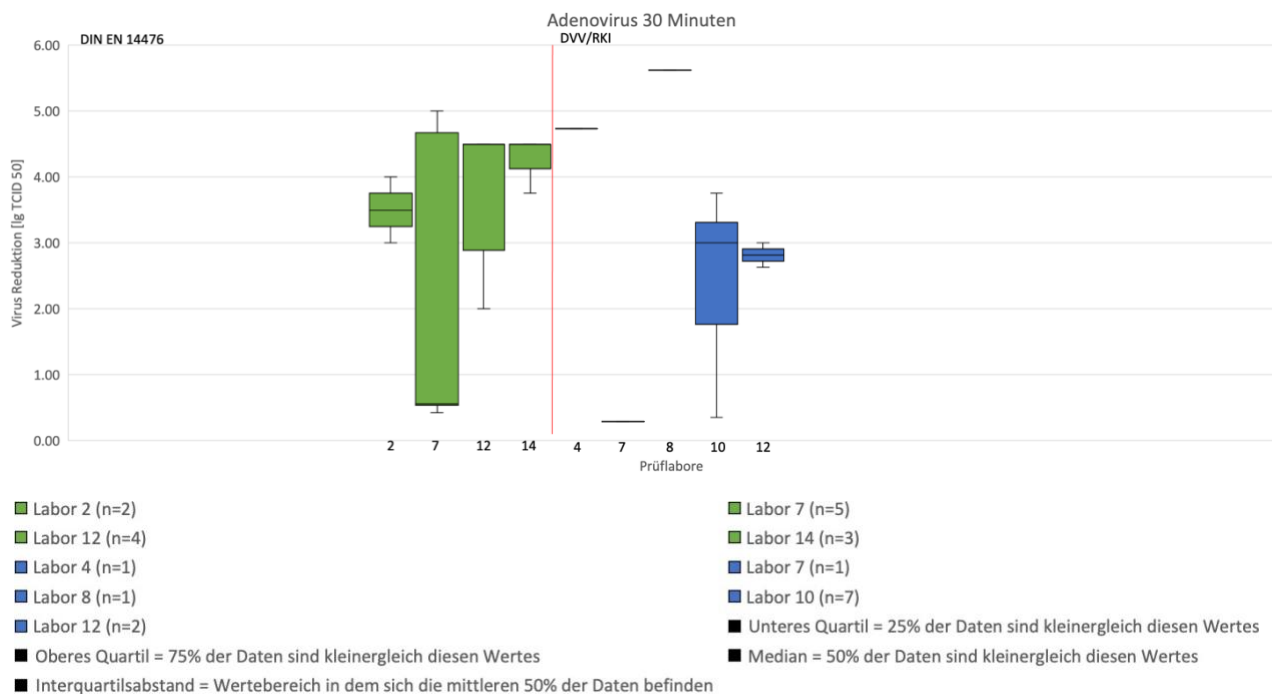


Abb. 21c: Virusreduktionen für Adenovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

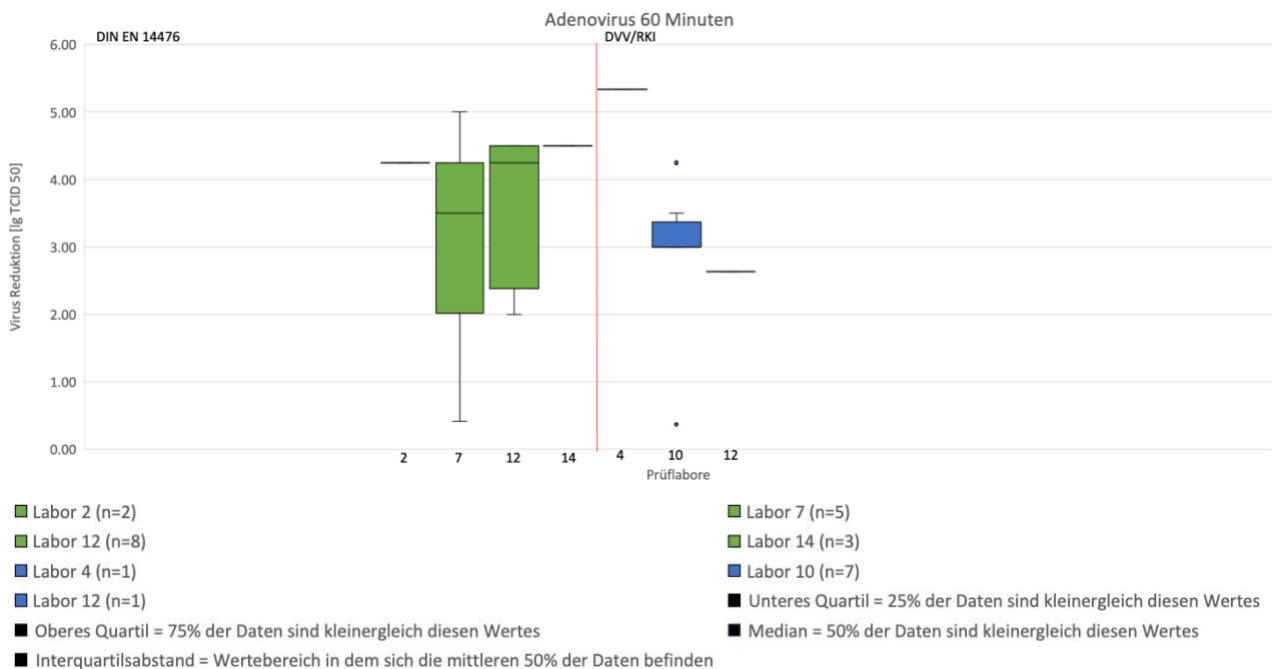


Abb. 21d: Virusreduktionen für Adenovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 21a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Adenovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 21a), 15 min (Abb. 21b), 30 min (Abb. 21c) und 60 min (Abb. 21d) in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus den Abb. 21a - d wird deutlich, dass sich nur schwer vergleichende Aussagen nur zu Prüflabor 7 und 12 treffen lassen, da zu diesen nach beiden Testmethoden wenige Messwiederholungen vorliegen. Bei Prüflabor 7 nach DIN EN 14476 unter gleichbleibender Anzahl an Messwiederholungen wurden die Interquartilsabstände mit zunehmender Einwirkzeit größer, wobei der größte Interquartilsabstand nach 30 min zu sehen war. So beträgt der Interquartilsabstand nach 5 min 0,17 Ig-Stufen und nach 30 min bereits 4,13 Ig-Stufen. Zu Prüflabor 7 nach DVV/RKI liegen nur bei 15 min und 30 min Daten vor, jedoch beziehen sich diese auf einzelne Versuche.

Zu Prüflabor 12 liegen nach 15 min sowohl zu Testmethode DIN EN 14476 als auch zu Testmethode DVV/RKI jeweils eine Messwiederholung vor. Nach 30 min liegt der durchschnittlich RF nach DIN EN 14476 bei 2,89 Ig-Stufen und nach DVV/RKI bei 2,82 Ig-Stufen. Nach 60 min liegt der durchschnittliche RF nach DIN EN 14476 bei 4,25 Ig-Stufen

und nach DVV/RKI bei 2,63 Ig-Stufen. Sowohl nach 30 min als auch nach 60 min sind die ungleiche Verteilung an Messwiederholungen zu berücksichtigen.

3.4.3 Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF des Adenovirus bei Anwendung unterschiedlicher Zellkultursysteme ermittelt und je nach Art der Testmethode in Abb. 22 und Abb. 23 getrennt dargestellt. Dies ermöglicht erste Vergleiche wie sich der RF bei unterschiedlichen Zellkulturen unter verschiedenen Testbedingungen verhält. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme nach Einwirkzeit berechnet, und weiter in Abb. 24a - d dargestellt. Aussagen bezüglich Einflussnahmen auf den RF können u. U. somit weiter präzisiert werden.

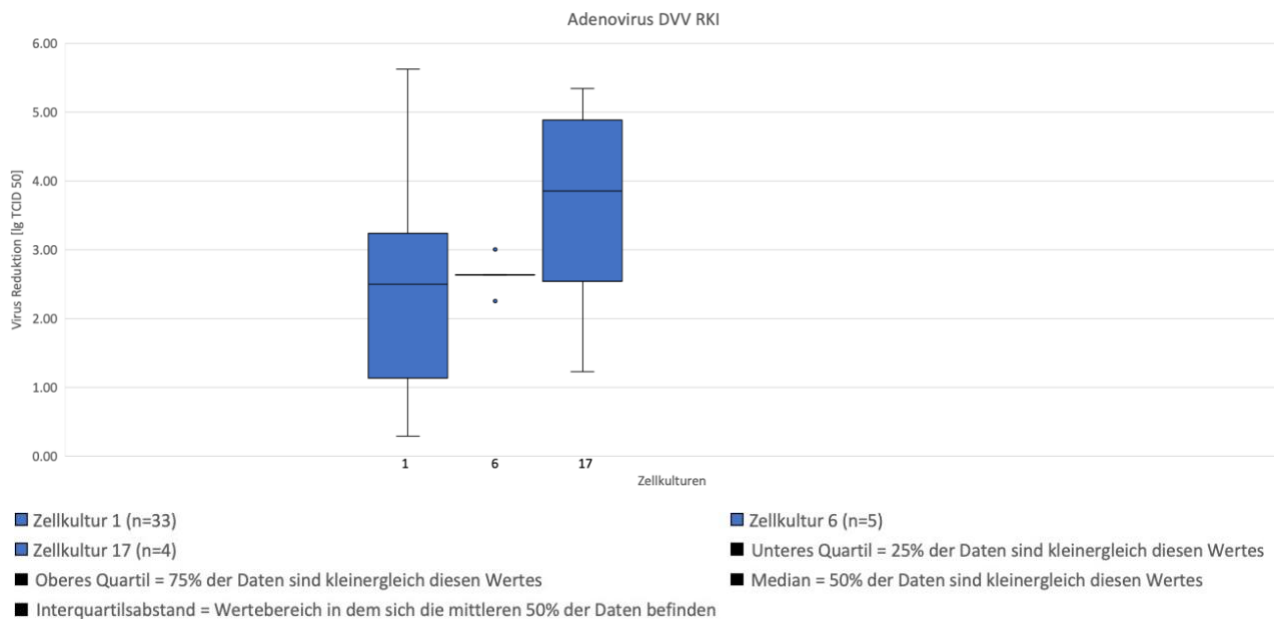


Abb. 22: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Adenovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

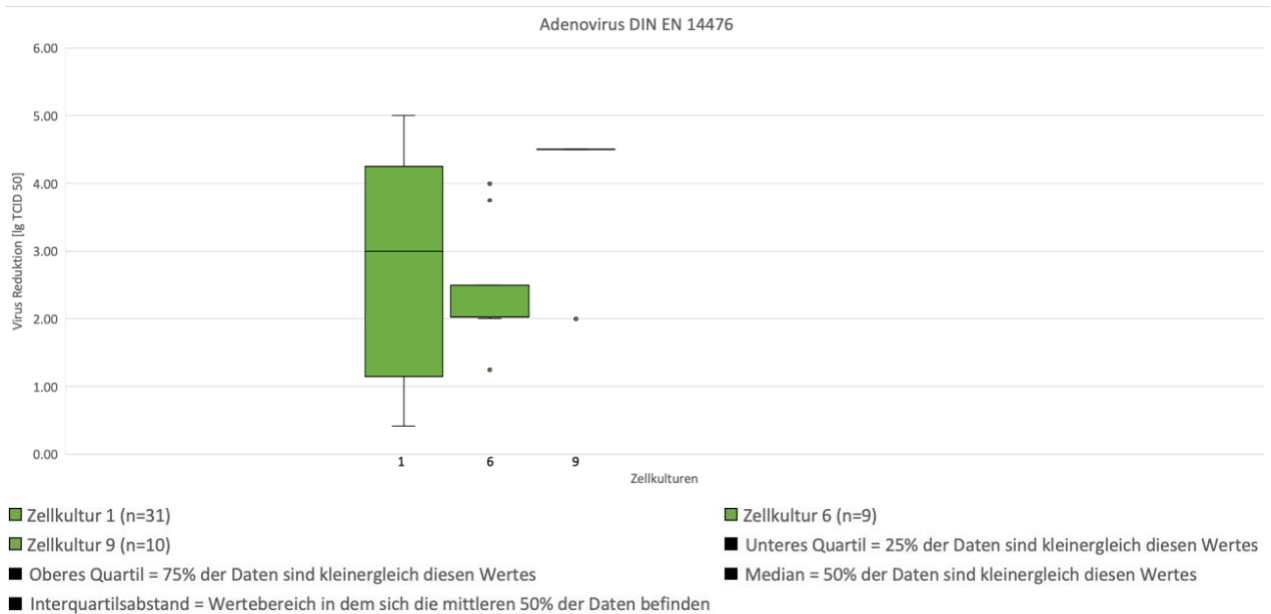


Abb. 23: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Adenovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Abb. 22 und 23 zeigen, dass bei Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 das Adenovirus in Zellkultur 1, 6 und 9, und nach DVV/RKI in Zellkultur 1, 6 und 17 gezüchtet wurde. Nach beiden Methoden fand die Züchtung in Zellkultur 1 am häufigsten statt. Bei Zellkultur 6 ist die durchschnittliche Reduktion nach DIN EN 14476 mit 2,5 Ig-Stufen und nach DVV/RKI mit 2,63 Ig-Stufen nahezu gleich groß. Bei Zellkultur 1 hingegen fällt die durchschnittliche Reduktion nach DVV/RKI 0,5 Ig-Stufen geringer aus als nach DIN EN 14476. Ebenso ist der Interquartilsabstand mit 2,11 Ig-Stufen nach DVV/RKI etwas kleiner als nach DIN EN 14476.

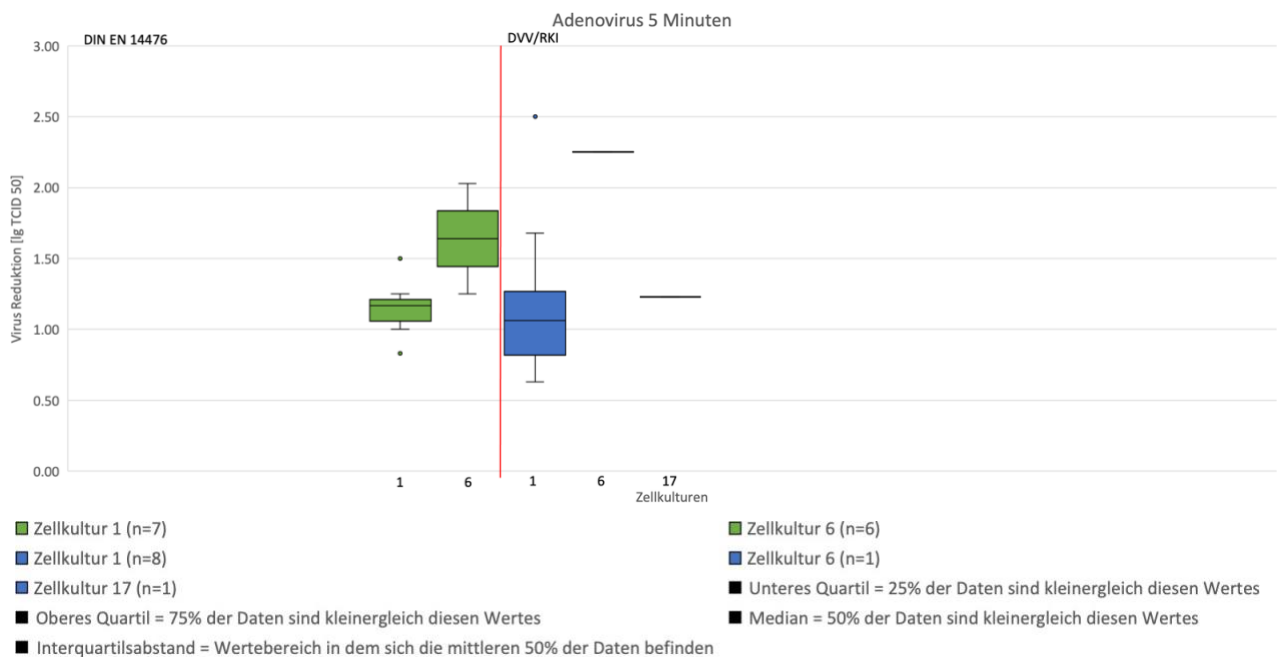


Abb. 24a : Virusreduktionen für Adenovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

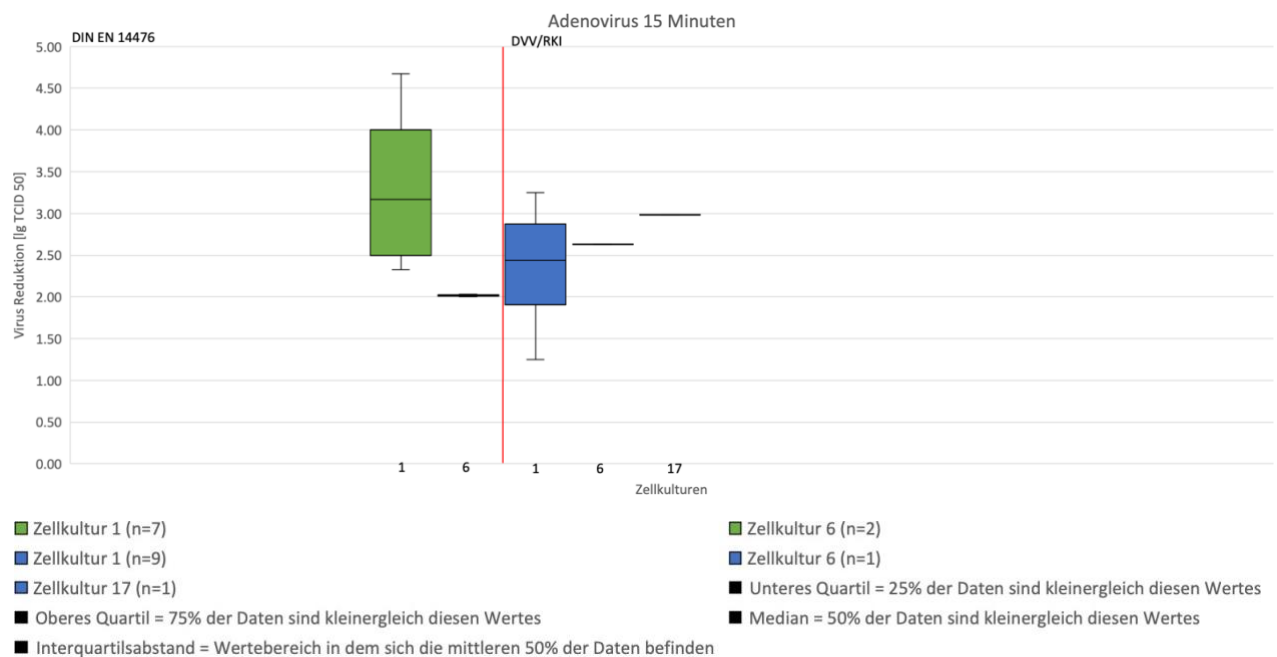


Abb. 24b : Virusreduktionen für Adenovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

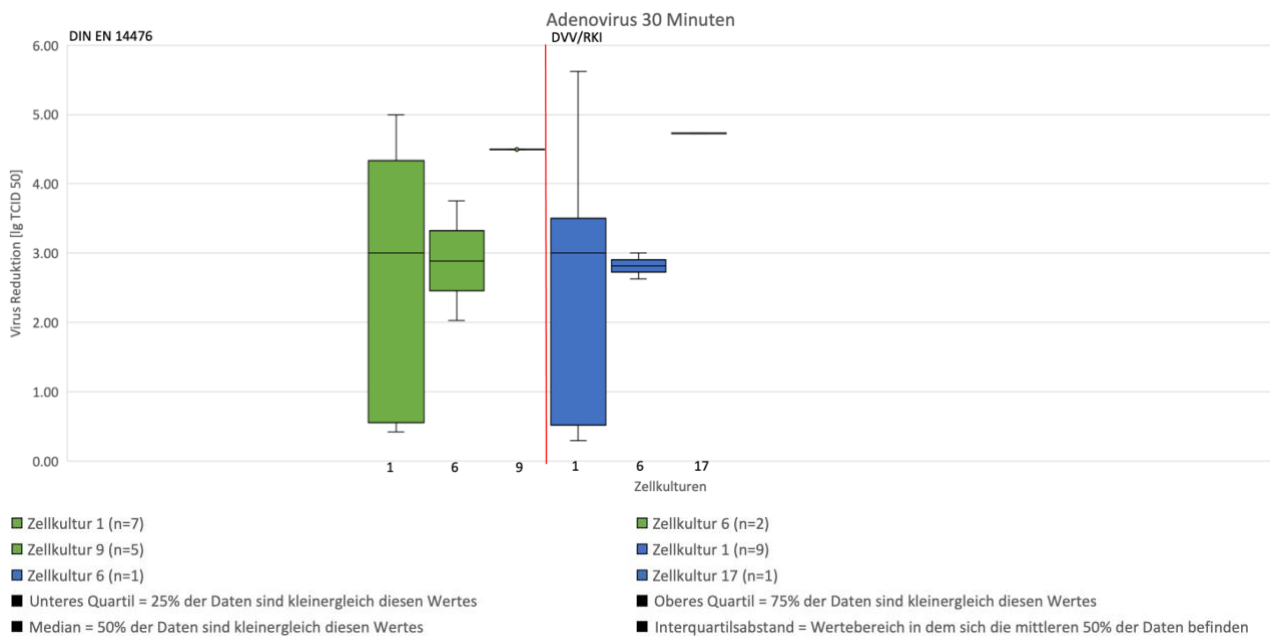


Abb. 24c: Virusreduktionen für Adenovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

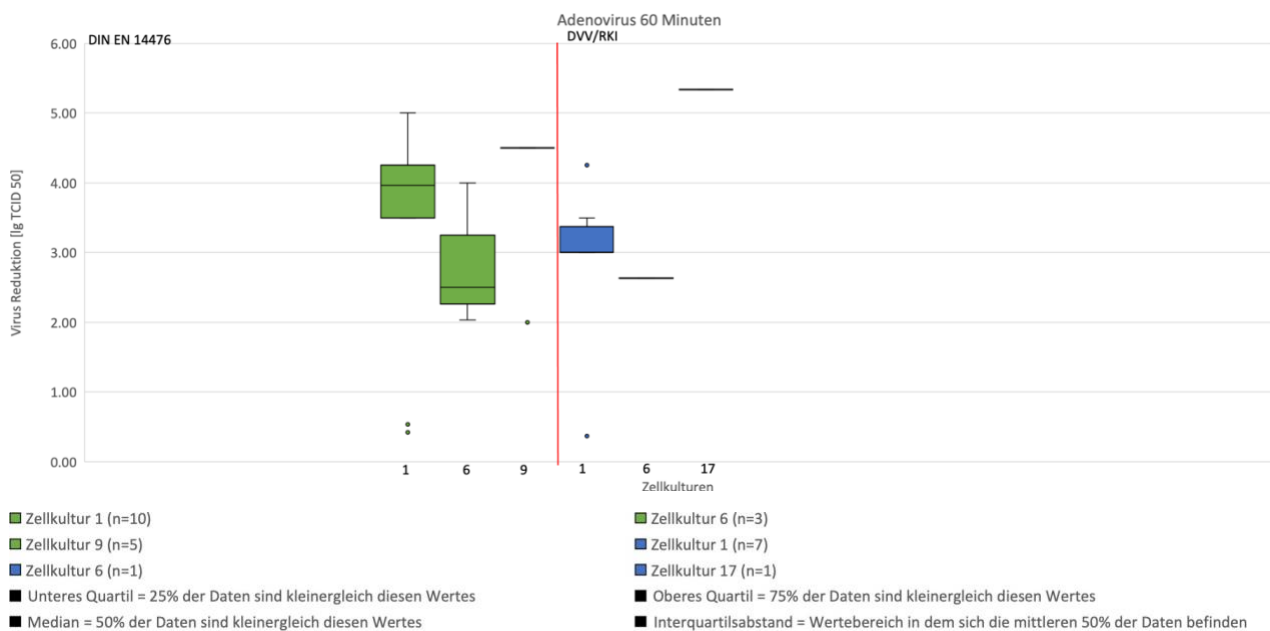


Abb. 24d : Virusreduktionen für Adenovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 24a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Adenovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 24a), 15 min (Abb. 24b), 30 min (Abb. 24c) und nach 60 min (Abb. 24d) in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Sowohl bei der Methode nach DIN EN 14476, als auch bei der Methode nach DVV/RKI steigt die durchschnittliche Reduktion der Viren über die Zeitintervalle bei Zellkultur 1 stetig an. Zudem ist zu beobachten, dass sich die Interquartilsabstände bei Zellkultur 1 nach beiden Testmethoden bis zur 30. Minute vergrößern und bei 60 min wieder verringern. So steigt der Interquartilsabstand bei Zellkultur 1 nach DIN EN 14476 von 0,15 lg-Stufen nach 5 min auf 3,79 lg-Stufen nach 30 min an, während nach DVV/RKI der Interquartilsabstand von 0,45 lg-Stufen nach 5 min auf 2,98 lg-Stufen ansteigt. Nach 60 min beträgt der Interquartilsabstand nach DIN EN 14476 allerdings nur noch 0,75 lg-Stufen und nach DVV/RKI 0,38 lg-Stufen.

Bei dem Adenovirus aus Zellkultur 6 fällt nach Methode DIN EN 14476 die durchschnittliche Reduktion sowohl nach 5 min mit 1,64 lg-Stufen als auch nach 15 min mit 2,01 lg-Stufen geringer aus als nach DVV/RKI. Nach 30 respektive 60 min erreichte die durchschnittliche Reduktion bei beiden Methoden nahezu einen gleich großen Wert. So beträgt diese nach 30 min 2,89 lg-Stufen für DIN EN 14476 und 2,82 lg-Stufen für DVV/RKI. Nach 60 min liegt der durchschnittliche RF für DIN EN 14476 bei 2,5 lg-Stufen für DVV/RKI bei 2,63 lg-Stufen. Weiterhin war auffällig, dass als nach DVV/RKI. (Abb. 24a - d)

3.4.4 Erhebung der 95 % Konfidenzintervalle

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Adenovirus die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkommastellen genau angegeben. (Tab. 12, 13)

Tab. 12: Berechnung der 95 % Konfidenzintervalle des Adenovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476.

Virus	Adenovirus			
Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	2.43	2.74	3.01	3.39
Standardabweichung	1.4108069	0.90346136	2.40149234	1.47618276
Stichprobengröße n	11	12	12	10
Standardfehler	0.42537429	0.26080683	0.69325112	0.46680998
Fehlergröße	0.83371659	0.51117095	1.35874447	0.91492888
95 % Konfidenzintervall	1.60 – 3.27	2.23 – 3.25	1.65 – 4.37	2.48 – 4.31

Tab.13: Berechnung der 95 % Konfidenzintervalle des Adenovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476

Virus	Adenovirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.25777778	3.02111111	3.14071429	3.48555556
Standardabweichung	0.34259224	1.00993635	1.70241215	1.40671592
Stichprobengröße n	9	9	14	18
Standardfehler	0.11419741	0.33664545	0.45498879	0.33156612
Fehlergröße	0.22382236	0.65981162	0.89175982	0.64985634
95 % Konfidenzintervall	-0.7 – 1.48	2.36 – 3.68	2.25 – 4.03	3.15 – 4.13

3.4.5 Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die Virustiterreduktion des Adenovirus bei den Suspensionsversuchen durch die Wahl des Testdesigns musste aufgrund der geringen Datenlage nach DIN EN 14476 die Zellkultur und nach DVV/RKI das Prüflabor als numerische Variable in das Regressionsmodell zusammengefasst werden. Somit galt ihr Effekt als linear zu interpretieren.

Generell konnte mit Hilfe des linear gemischten Regressionsmodells keine signifikanten Einflüsse weder durch die Prüflabore noch durch die Zellkulturen nachgewiesen werden. (A7 und A8 siehe Anhang)

3.5 Murines Norovirus

Die bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem Murinen Norovirus werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf zur Einwirkzeit betrachtet (siehe 3.5.1) und weiterführend nach Art des Prüflabors (siehe 3.5.2) und des Zellkultursystems (siehe 3.5.3) differenziert einander gegenübergestellt.

3.5.1 Murines Norovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit

In den folgenden Abb. 25 und Abb. 26 wurden für Suspensionsversuche mit dem Murinen Norovirus die mittleren RF zu den jeweiligen Zeitintervallen ermittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt dargestellt. Somit ist der mittlere RF für die Prüfmethode nach DIN EN 14476 und DVV/RKI in Abb.25 und Abb. 26 nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min eindeutig ablesbar.

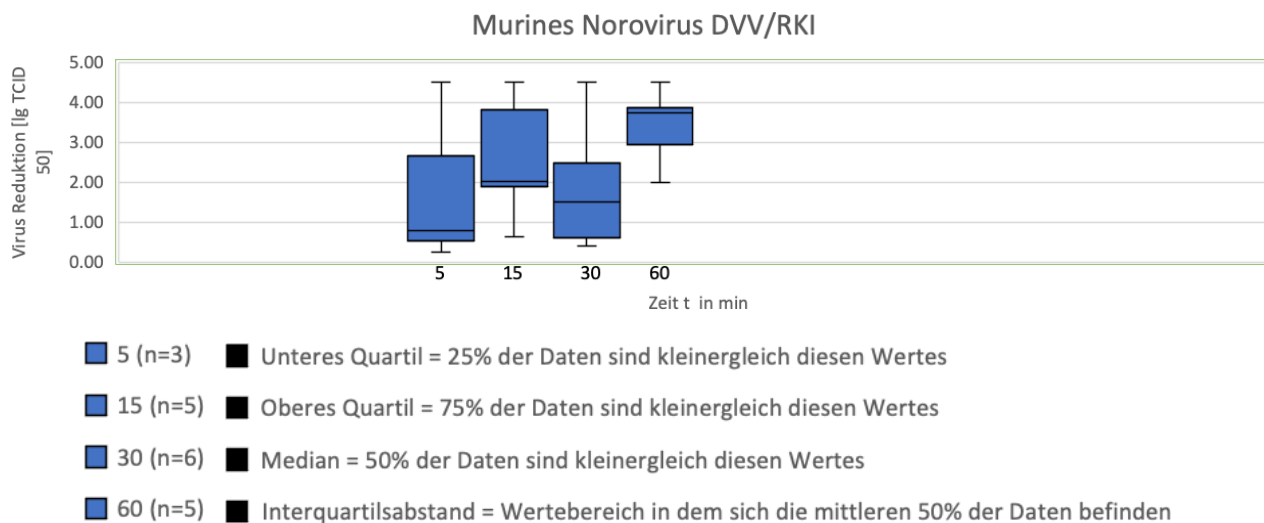


Abb. 25: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zeitintervalle. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

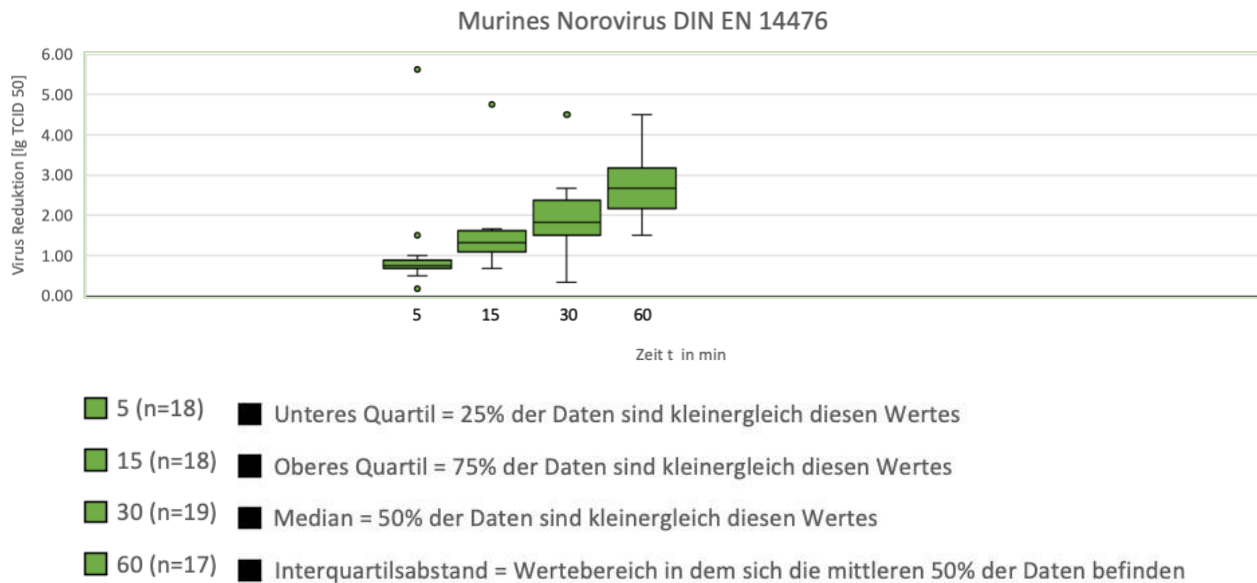


Abb. 26: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zeitintervalle. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Abb. 25 und 26 zeigen, dass dreimal häufiger Versuche nach Methode DIN EN 14476 als nach DVV/RKI durchgeführt wurden. Bei beiden Methoden war die Anzahl an Messwiederholungen gleichmäßig auf die unterschiedlichen Zeitintervalle verteilt. Aus Abb. 25 geht hervor, dass bei dem Murinen Norovirus nach Methode DVV/RKI die durchschnittliche Reduktion nach 30 min rückläufig wird. So beträgt der durchschnittliche RF nach 15 min 2,02 lg-Stufen und nach 30 min 1,5 lg-Stufe.

Ebenso war zu beobachten, dass bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 im Laufe der Zeit die Größe der Interquartilsabstände zunahm. Nach 5 min beträgt der Interquartilsabstand noch 0,22 lg-Stufen, während nach 60 min dieser eine lg Stufe beträgt.

Bei den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI fällt auf, dass hier die Interquartilsabstände deutlich größer ausfallen. So betragen diese nach 5 min 2,13 lg-Stufen, nach 15 min 1,93 lg-Stufen, nach 30 min 1,86 lg-Stufen und nach 60 min 0,91 lg-Stufen.

3.5.2 Murines Norovirus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF des Murinen Norovirus separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden werden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren gut sichtbar darstellen.

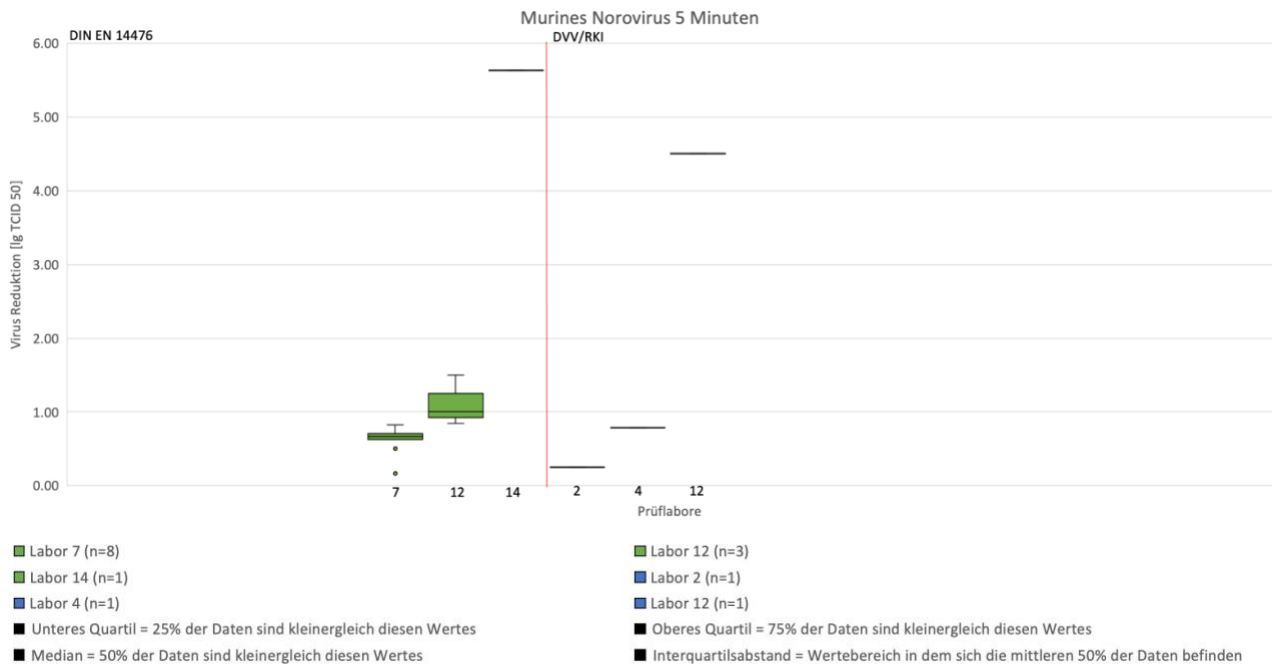


Abb. 27a : Virusreduktionen für Murines Norovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

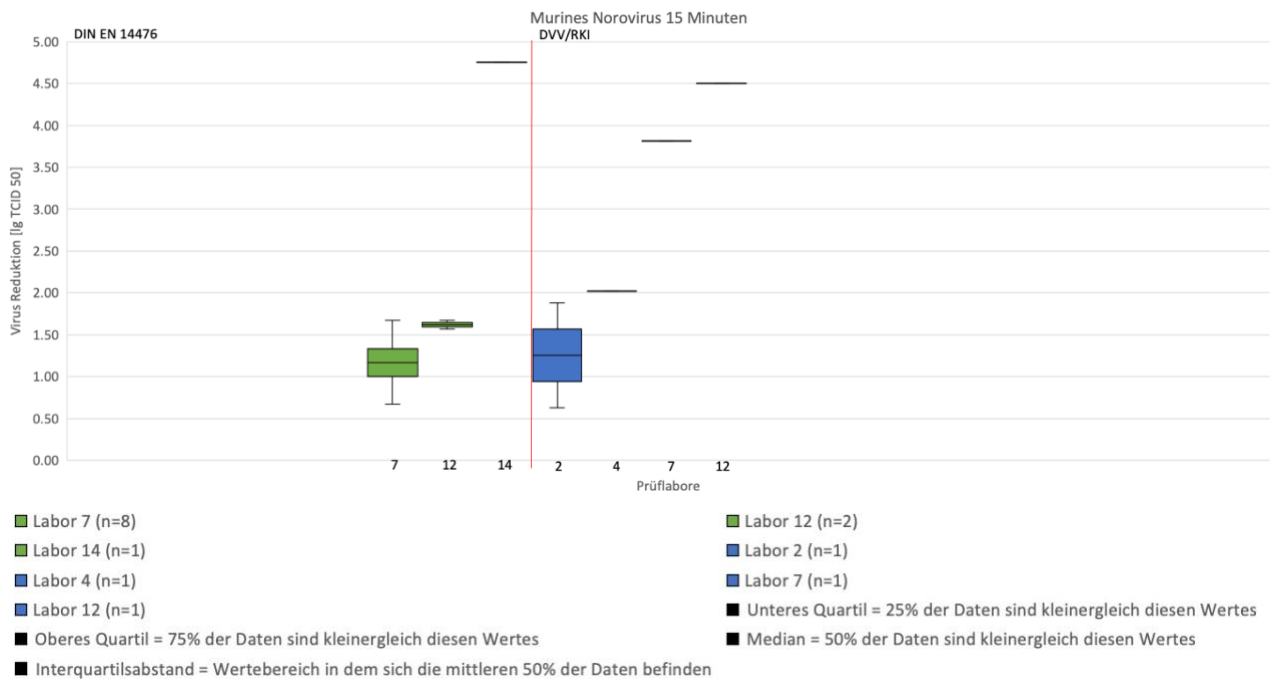


Abb. 27b: Virusreduktionen für Murines Norovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

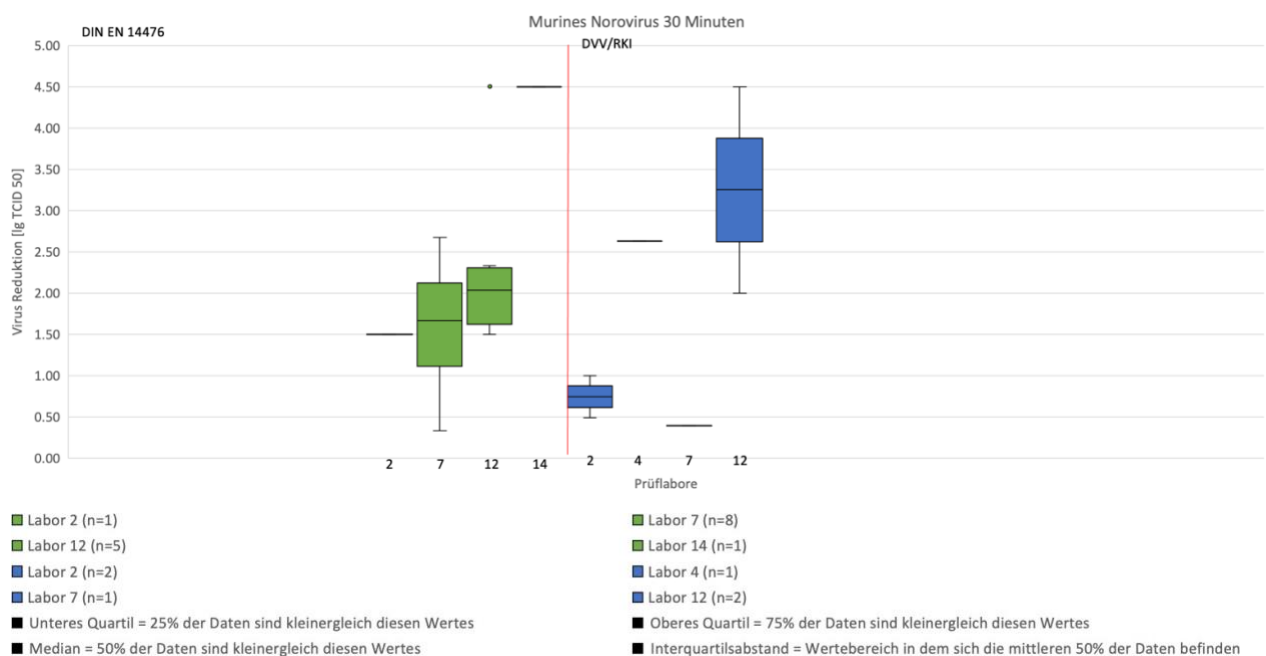


Abb. 27c: Virusreduktionen für Murines Norovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

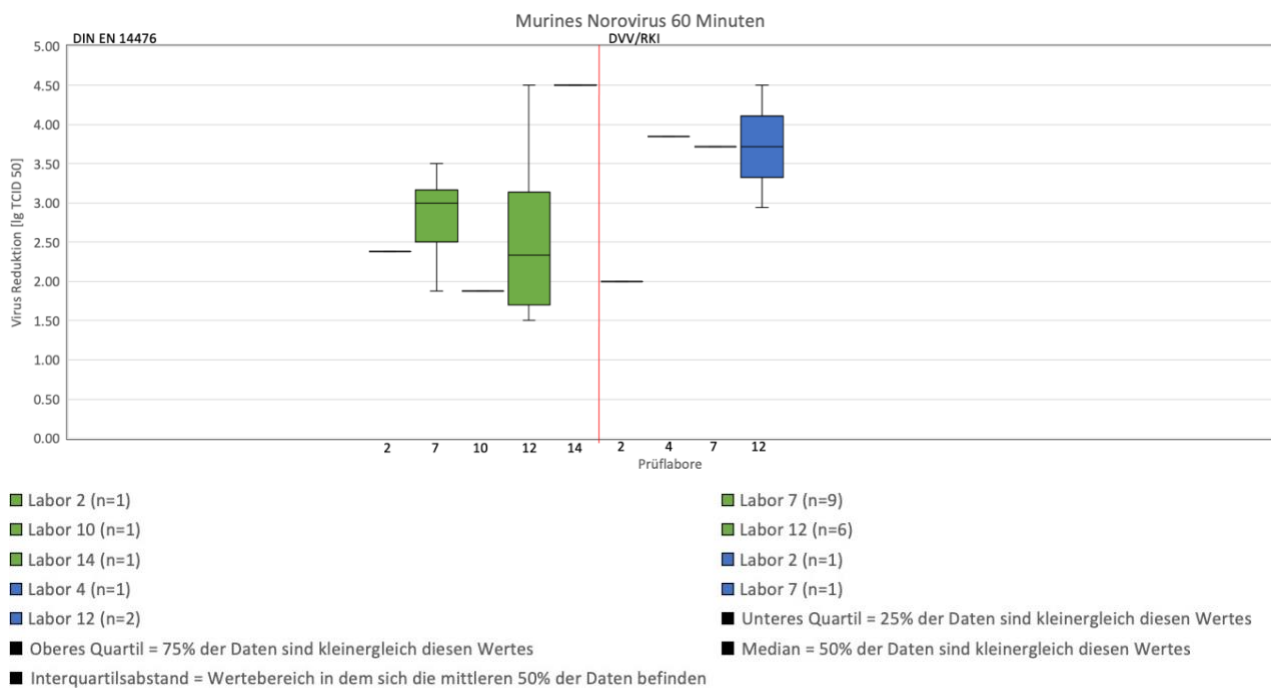


Abb. 27d: Virusreduktionen für Murines Norovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 27a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 27a), 15 min (Abb. 27b), 30 min (Abb. 27c) und nach 60 min (Abb. 27d) in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die Anzahl der vorliegenden Testergebnisse an.

Bezugnehmend auf die durchschnittliche Reduktion konnte bei den Versuchen nach DVV/RKI bei Prüflabor 12 nach 5 min, bei Prüflabor 7 und 12 nach 15 min und bei Prüflabor 12 nach 30 min höhere Werte erreicht werden als bei der Methode nach DIN EN 14476. So liegt nach DVV/RKI der durchschnittliche RF bei Prüflabor 12 nach 5 min bei 4,5 lg-Stufen und nach DIN EN 14476 bei 5,63 lg-Stufen. Nach 15 min liegt der durchschnittliche RF von Prüflabor 12 nach DVV/RKI bei 4,5 lg-Stufen und nach DIN EN 14476 bei 4,75 lg-Stufen. Bei Prüflabor 7 liegt der durchschnittliche RF zur selben Zeit nach DVV/RKI bei 3,81 lg-Stufen und nach DIN EN 14476 bei 1,62 lg-Stufen. Nach 30 min liegt der durchschnittliche RF von Prüflabor 12 nach DVV/RKI bei 3,25 lg-Stufen, während dieser nach DIN EN 14476 bei 2,03 lg-Stufen liegt.

Hingegen fiel nach 30 min bei Prüflabor 2 und 7 die durchschnittliche Reduktion nach Methode DIN EN 14476 höher aus. So liegt für Prüflabor 2 nach DIN EN 14476 die durchschnittliche Reduktion bei 1,5 lg-Stufen und für Prüflabor 7 bei 1,67 lg-Stufen.

Hingegen lagen diese nach DVV/RKI für Prüflabor 2 bei 0,75 Ig-Stufen und für Prüflabor 7 bei 0,39 Ig-Stufen.

Nach 60 min beträgt die durchschnittliche Reduktion sowohl bei Prüflabor 7 als auch bei Prüflabor 12 nach DVV/RKI 3,72 Ig-Stufen und ist somit größer als nach Methode DIN EN 14476. Prüflabor 2 liegt nach 60 min mit einem durchschnittlichen RF von 2 Ig-Stufen nach Testmethode DVV/RKI unterhalb des durchschnittlichen RF von Testmethode DIN EN 14476. (Abb. 27a - d)

3.5.3 Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF des Vacciniavirus bei Anwendung unterschiedlicher Zellkultursysteme ermittelt und je nach Art der Testmethode in Abb. 28 und Abb. 29 getrennt dargestellt. Dies ermöglicht erste Vergleiche, wie sich der RF bei unterschiedlichen Zellkulturen unter verschiedenen Testbedingungen verhält. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme nach Einwirkzeit berechnet, und weiter in Abb. 30a - d dargestellt. Aussagen bezüglichlicher Einflussnahmen auf den RF können u.U. somit weiter präzisiert werden.

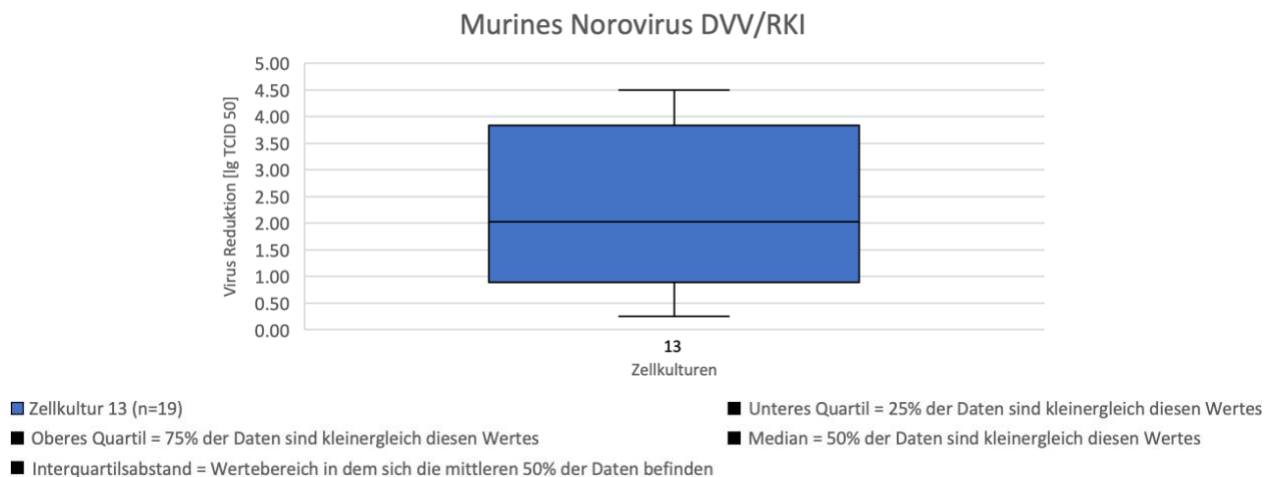


Abb. 28: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

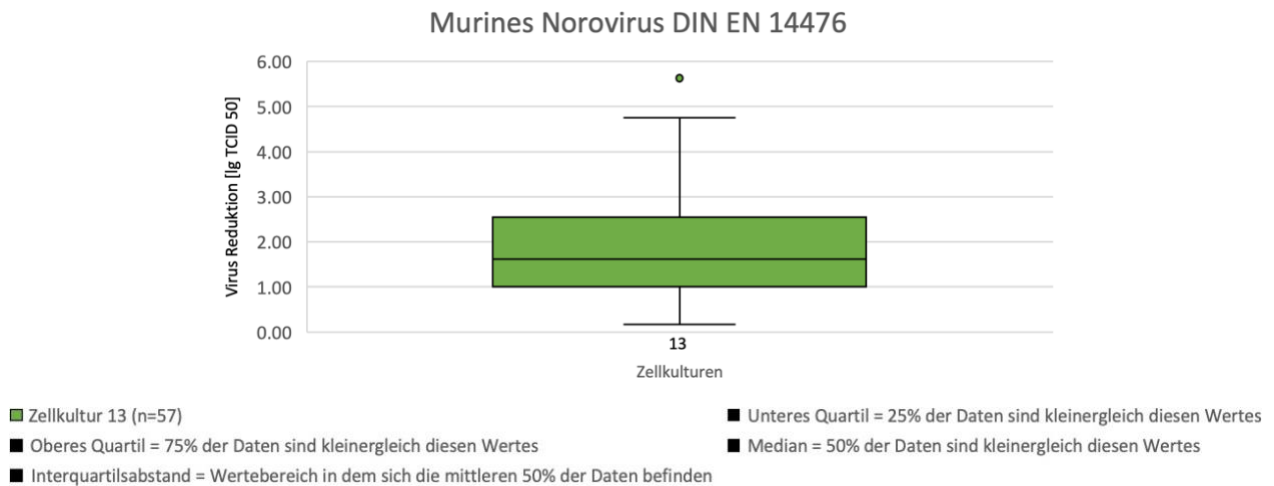


Abb. 29: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Abb. 28 und 29 zeigen, dass das Murine Norovirus sowohl nach Methode DIN EN 14476 als nach Methode DVV/RKI ausschließlich in Zellkultur 13 gezüchtet worden sind.

Die durchschnittliche Reduktion liegt bei Zellkultur 13 bei den Versuchen nach DIN EN 14476 bei 1,62 lg-Stufen und somit unterhalb der durchschnittlichen Reduktion nach DVV/RKI, die bei 2,02 lg-Stufen liegt.

Ebenso fällt der Interquartilsabstand nach DIN EN 14476 mit 1,54 lg-Stufen deutlich kleiner aus als nach DVV/RKI.

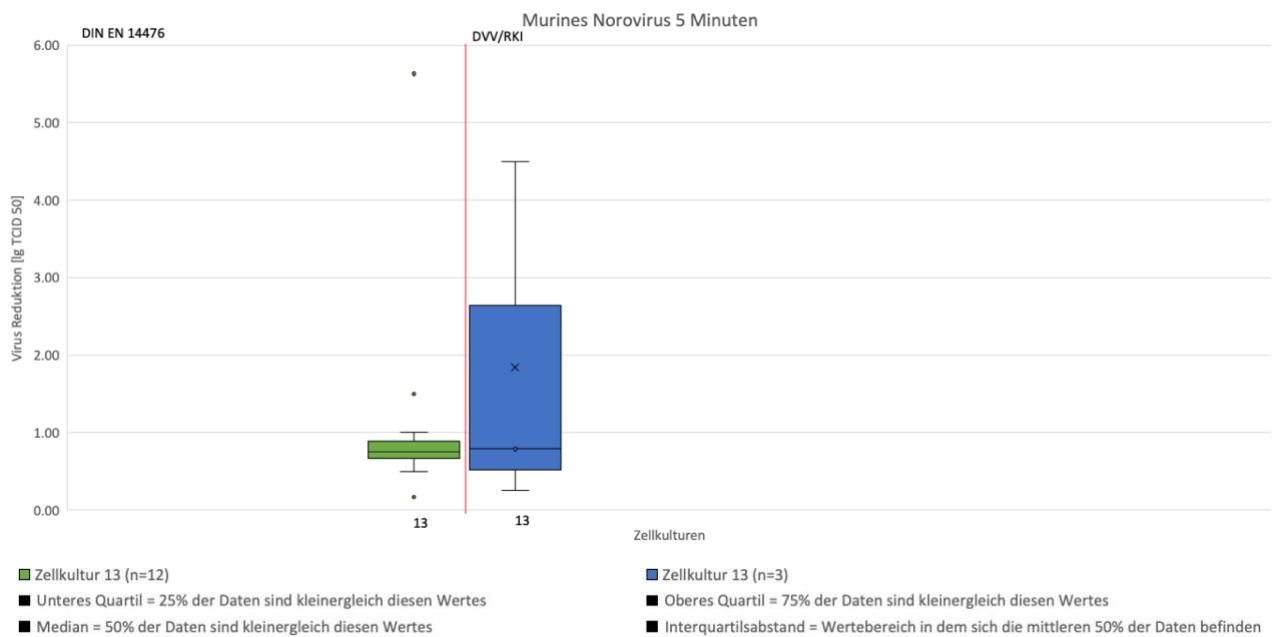


Abb. 30a: Virusreduktionen für Murines Norovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

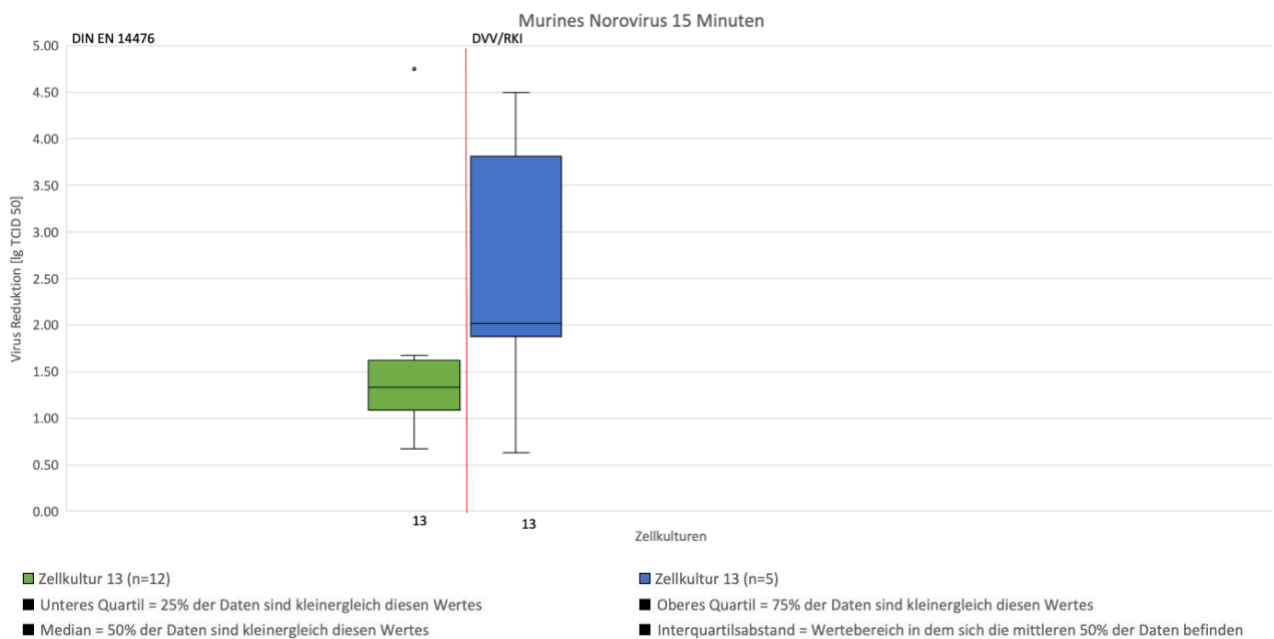


Abb. 30b: Virusreduktionen für Murines Norovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

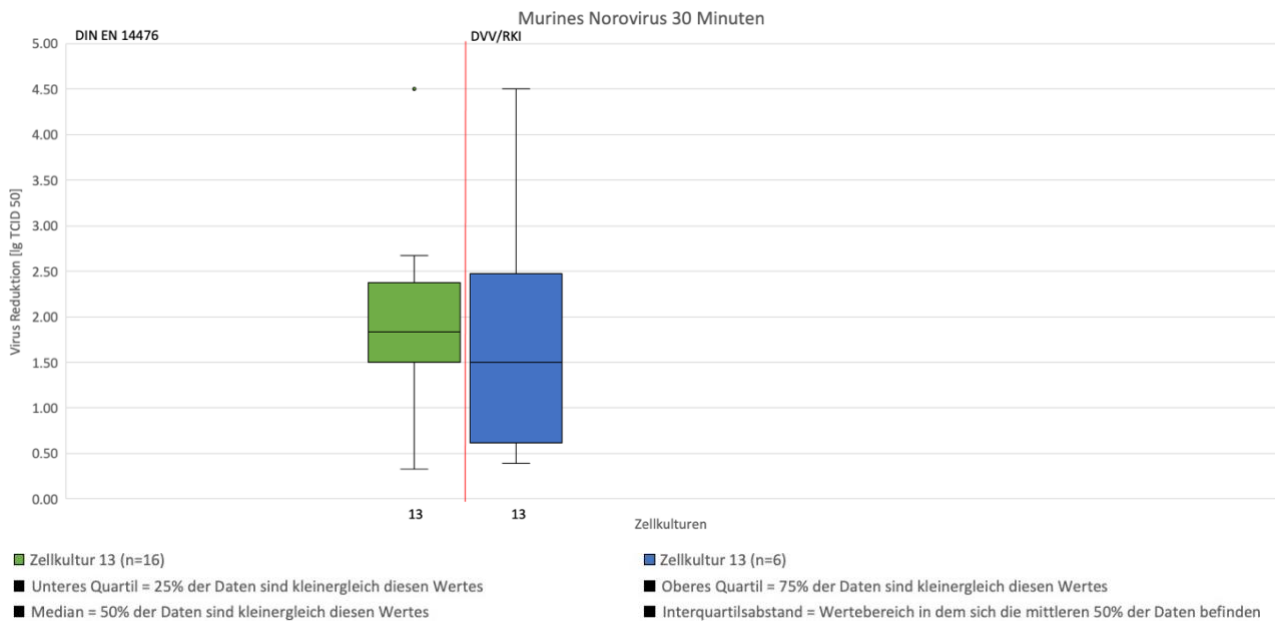


Abb. 30c: Virusreduktionen für Murines Norovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

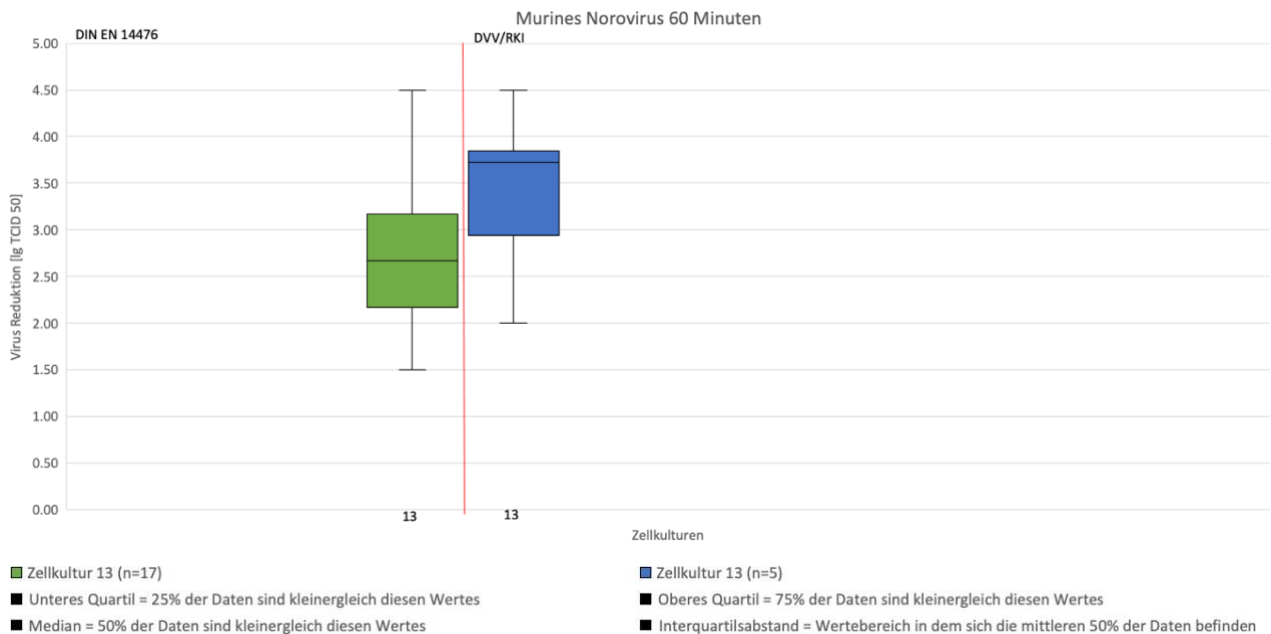


Abb. 30d: Virusreduktionen für Murines Norovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 30a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Murinen Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 30a), 15 min (Abb. 30b), 30 min (Abb. 30c) und nach 60 min (Abb. 30d) in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus den Abb. 30a - d ist deutlich zu erkennen, dass die durchschnittliche Reduktion des Murinen Norovirus aus Zellkultur 13 nach Methode DIN EN 14476 niedriger ausfällt als bei den Versuchen nach DVV/RKI. Einzige Ausnahme bildet der nach 30 min erreichte Wert. So beträgt die durchschnittliche Reduktion nach 5 min für DIN EN 14476 0,75 Ig-Stufen und für DVV/RKI 0,79 Ig-Stufen. Nach 15 min liegt die durchschnittliche Reduktion für DIN EN 14476 bei 1,33 Ig-Stufen, während nach DVV/RKI diese 2,02 Ig-Stufen beträgt. Der durchschnittliche RF nach 30 min liegt bei Testmethode DIN EN 14476 bei 1,84 Ig-Stufen und bei Testmethode DVV/RKI bei 1,5 Ig-Stufen. Nach 60 min liegt die durchschnittliche Reduktion nach DIN EN 14476 bei 2,67 Ig-Stufen und nach DVV/RKI bei 3,72 Ig-Stufen.

Ebenso ließ sich aus den Abb. entnehmen, dass die Interquartilsabstände nach Methode DIN EN 14476 deutlich enger beieinander lagen. Einzige Ausnahme bilden die Werte nach 60 min.

3.5.4 Erhebung des 95% Konfidenzintervall

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Murinen Norovirus wurden die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkomma Stellen genau angegeben (Tab. 14, 15).

Tab. 14: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Murinen Norovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI

Virus	Murines Norovirus			
Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.84666667	2.568	1.835	3.402
Standardabweichung	2.081666	1.56562128	1.57198919	0.96001042
Stichprobengröße n	3	5	6	5
Standardfehler	1.20185043	0.70016712	0.6417619	0.42932971
Fehlergröße	2.35557876	1.37229955	1.25782765	0.84146906
95 % Konfidenzintervall	-0.51 – 4.20	1.20 – 3.94	0.26 – 3.09	2.56 – 4.24

Tab. 15: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Murinen Norovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476

Virus	Murines Norovirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	1.16583333	1.57545455	2.035625	2.79470588
Standardabweichung	1.44006602	1.09668011	1.15243492	0.88500789
Stichprobengröße n	12	11	16	17
Standardfehler	0.41571125	0.3306615	0.28810873	0.05205929
Fehlergröße	0.81477743	0.64808331	0.56468159	0.10203412
95 % Konfidenzintervall	0.35 – 1.98	0.93 – 2.22	1.47 – 2.60	2.69 – 2.89

3.5.5 Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die durchschnittliche Reduktion des Murinen Norovirus bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 durch die Wahl des Testdesigns fiel auf, dass aufgrund der einseitigen Datenlage der Zellkulturen diese zusammengefasst als numerische Variabel in das linear gemischte Regressionsmodell einfließen musste. Anhand der statistischen Analyse konnte nachgewiesen werden, dass weder die Zellkulturen noch die Prüflabore einen signifikanten Einfluss auf die Reduktion hatten (A9 und A10 siehe Anhang).

3.6 Poliovirus

Die bei den Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem Poliovirus werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf zur Einwirkzeit betrachtet (siehe 3.6.1) und weiterführend nach Art des Prüflabors (siehe 3.6.2) und des Zellkultursystems (siehe 3.6.3) differenziert einander gegenübergestellt.

3.6.1 Poliovirus in Abhängigkeit der Einwirkzeit

In den folgenden Abb. 31 und Abb. 32 wurden für Suspensionsversuche mit Poliovirus die mittleren RF zu den jeweiligen Zeitintervallen ermittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt dargestellt. Somit ist der mittlere RF für die Prüfmethode nach DIN EN 14476

und DVV/RKI in Abb. 31 und Abb. 32 nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min sehr gut ablesbar.

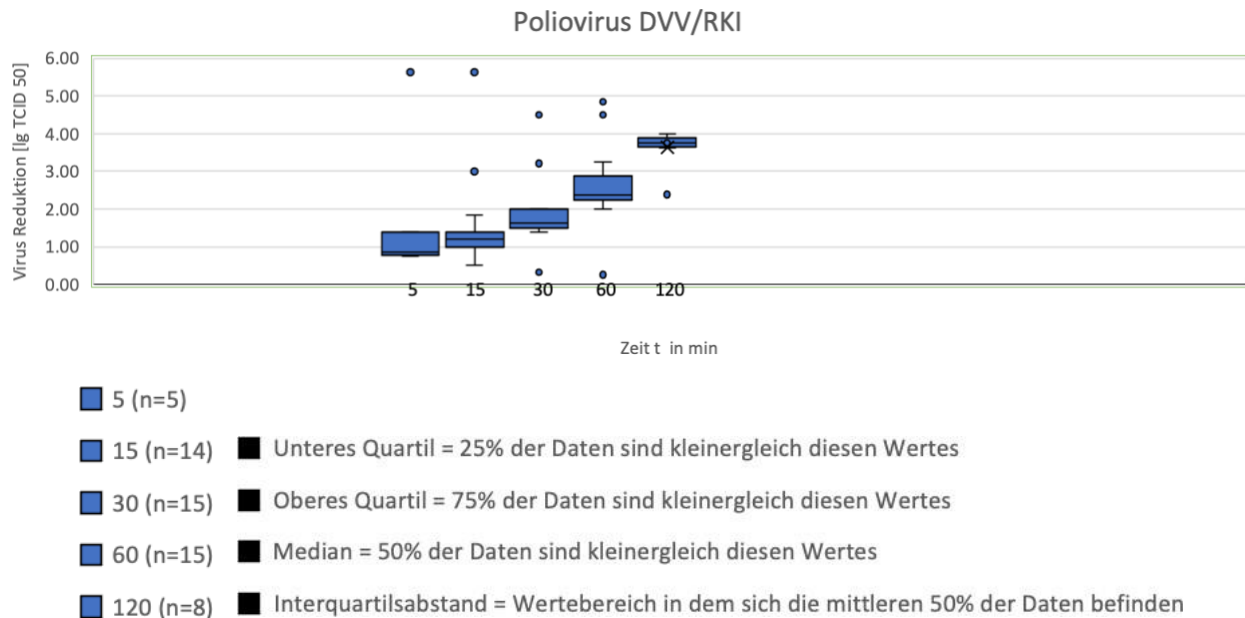


Abb. 31: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zeitintervalle. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

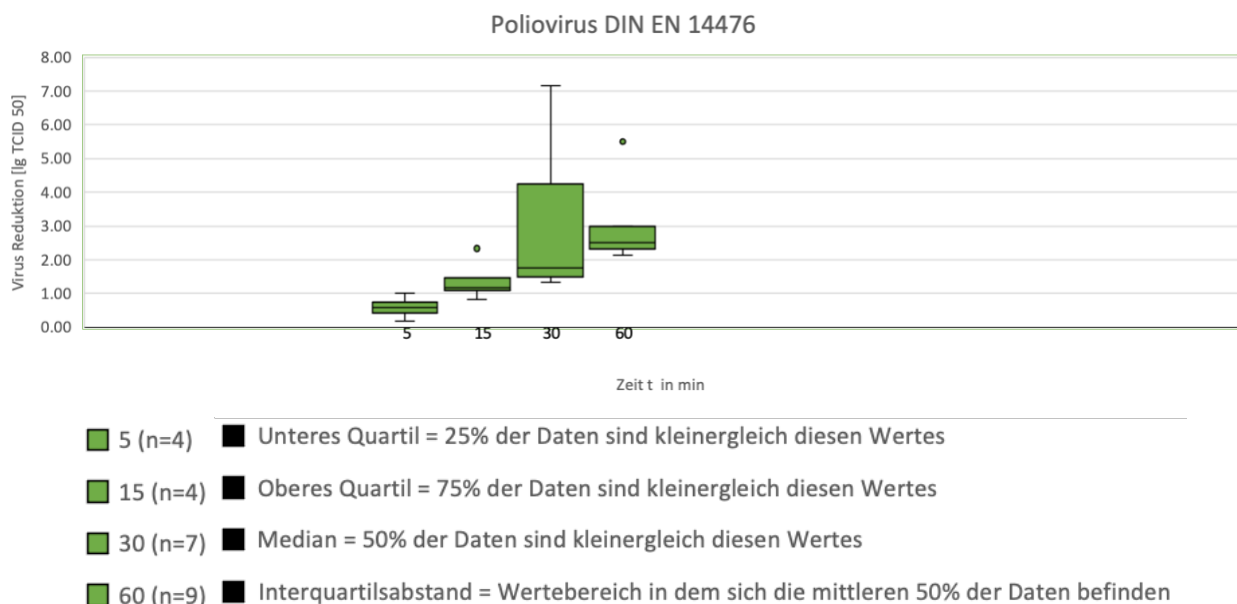


Abb. 32: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zeitintervalle. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus Abb. 31 und 32 ging hervor, dass wesentlich mehr Versuche nach Methode DVV/RKI als nach Methode DIN EN 14476 durchgeführt wurden. Bei den Versuchen nach DVV/RKI lag die meiste Anzahl an Messungen bei 15 min, 30 min und 60 min vor. Nach Methode DIN EN 14476 waren die Messungen, wenn auch in geringer Anzahl, gleichmäßig auf die Zeitintervalle verteilt.

Sowohl bei den Versuchen nach DIN EN 14476, als auch bei den Versuchen nach DVV/RKI steigt die durchschnittliche Reduktion des Poliovirus stetig an und auch alle Interquartilsabstände liegen sehr dicht beieinander. Einzige Ausnahme bildete der Interquartilsabstand nach Methode DIN EN 14476 bei 30 min. Dieser beträgt 2,75 Ig-Stufen.

Nach 5 min und 15 min erzielte die durchschnittliche Reduktion nach Methode DIN EN 14476 einen geringeren Wert, hingegen sie nach 30 und 60 min nach Methode DVV/RKI höher ausfiel. So liegt der durchschnittliche RF nach 5 min für DIN EN 14476 bei 0,59 Ig-Stufen und für DVV/RKI bei 0,87 Ig-Stufen. Nach 15 min beträgt der durchschnittliche RF für DIN EN 14476 1,17 Ig-Stufen und für DVV/RKI 1,19 Ig-Stufen. Der durchschnittliche Reduktionsfaktor nach 30 min beträgt für DIN EN 14476 1,75 Ig-Stufen und für DVV/RKI 1,63 Ig-Stufen. Nach 60 min liegt der durchschnittliche RF für DIN EN 14476 bei 2,5 Ig-Stufen und für DVV/RKI bei 2,38 Ig-Stufen.

3.6.2 Poliovirus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF des Poliovirus separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden werden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren gut sichtbar darstellen.

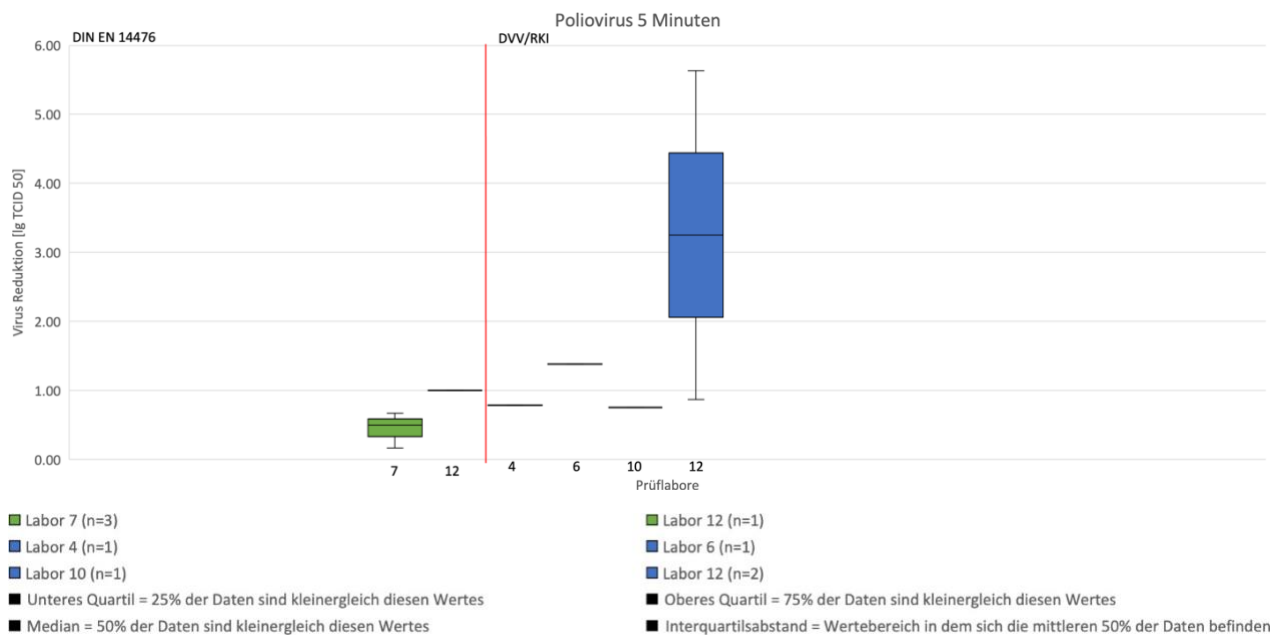


Abb. 33a: Virusreduktionen für Poliovirus als Ig TCID50 der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

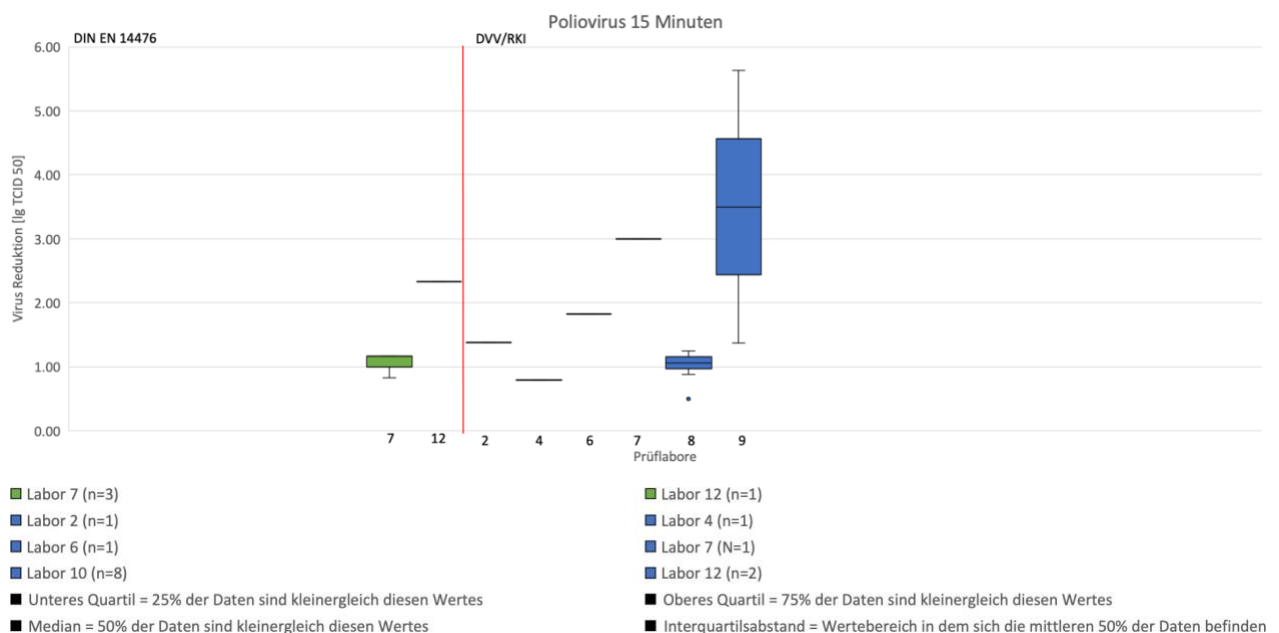


Abb. 33b: Virusreduktionen für Poliovirus als Ig TCID50 der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

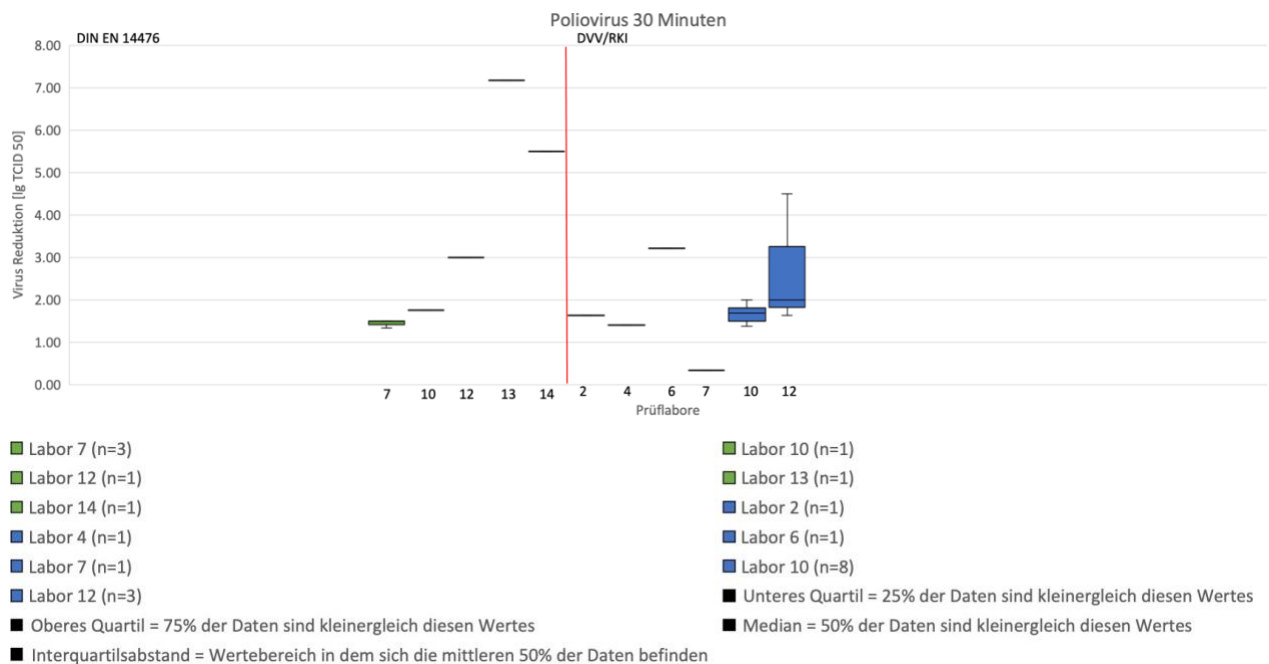


Abb. 33c: Virusreduktionen für Poliovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

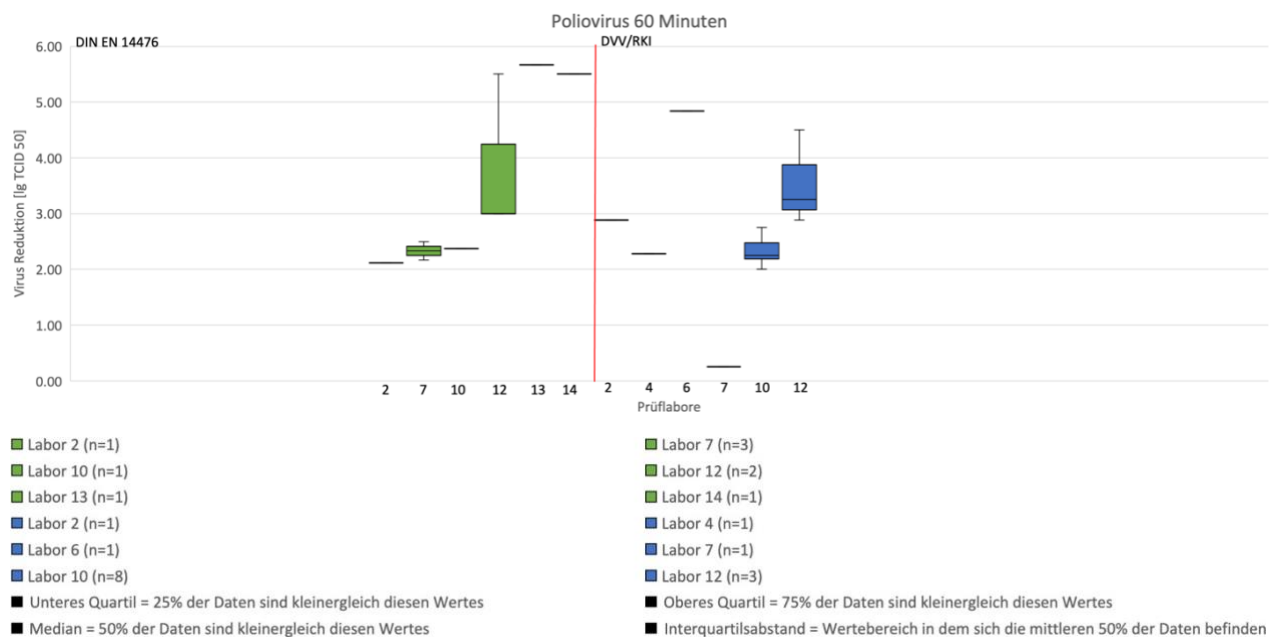


Abb. 33d: Virusreduktionen für Poliovirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflabore bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 33a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 33a), 15 min (Abb. 33b), 30 min (Abb. 33c) und nach 60 min (Abb. 33d) in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus Abb. 33a geht hervor, dass die durchschnittliche Reduktion nach 5 min nach DVV/RKI bei Prüflabor 12 mit 3,25 Ig-Stufen wesentlich höher lag als nach DIN EN 14476. Nach 15 min ist die durchschnittliche Reduktion nach DVV/RKI bei Prüflabor 7 mit 3 Ig-Stufen und bei Prüflabor 12 mit 3,5 Ig-Stufen größer als nach Testmethode DIN EN 14476. Wie aus Abb. 33c hervor geht sind nach 30 min die durchschnittlichen RF nach Testmethoden DIN EN 14476 bei Prüflabor 7 mit 1,5 Ig-Stufen, Prüflabor 10 mit 1,75 Ig-Stufen und Prüflabor 12 mit 2 Ig-Stufen insgesamt größer ausgefallen als nach DVV/RKI. Nach 60 min ist die durchschnittliche Reduktion bei Prüflabor 2 und 12 nach Testmethode DIN EN 14476 niedriger als nach Testmethode DVV/RKI. Bei Prüflabor 7 und 10 hingegen ist die durchschnittliche Reduktion nach DIN EN 14476 größer als nach Testmethode DVV/RKI. Die durchschnittliche Reduktion nach 60 min beträgt nach DIN EN 14476 für Prüflabor 2 2,12 Ig-Stufen, für Prüflabor 7 2,33 Ig-Stufen, für Prüflabor 10 2,37 Ig-Stufen und für Prüflabor 12 3 Ig-Stufen. Hingegen beträgt die durchschnittliche Reduktion nach DVV/RKI für Prüflabor 2 2,88 Ig-Stufen, für Prüflabor 7 0,26 Ig-Stufen, für Prüflabor 10 2,25 Ig-Stufen und für Prüflabor 12 3,25 Ig-Stufen.

3.6.3 Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF des Poliovirus bei Anwendung unterschiedlicher Zellkultursysteme ermittelt und je nach Art der Testmethode in Abb. 34 und Abb. 35 getrennt dargestellt. Dies ermöglicht erste Vergleiche wie sich der RF bei unterschiedlichen Zellkulturen unter verschiedenen Testbedingungen verhält. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme nach Einwirkzeit berechnet, und weiter in Abb. 36a - d dargestellt. Aussagen bezüglichlicher Einflussnahmen auf den RF können u.U. somit weiter präzisiert werden.

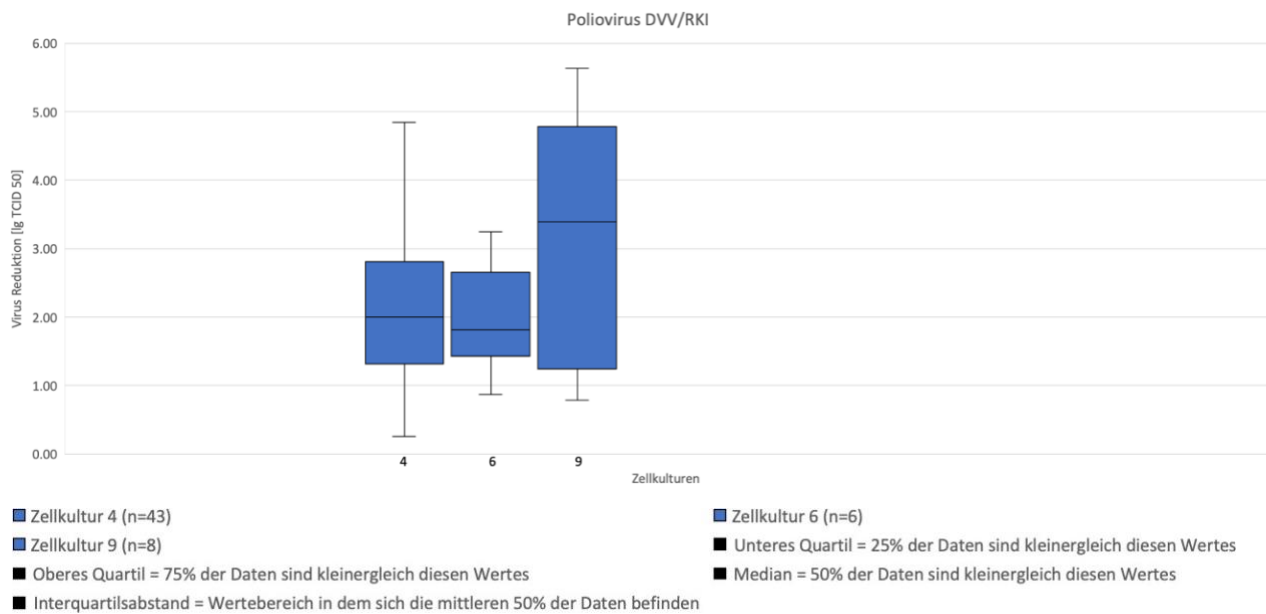


Abb. 34: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

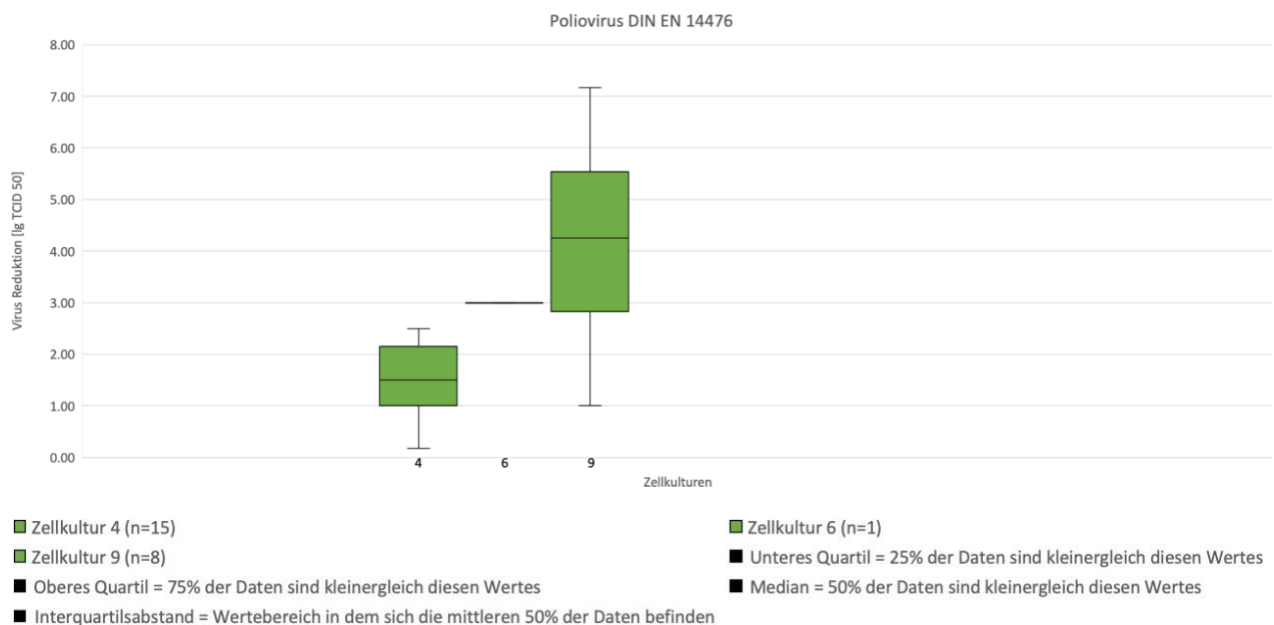


Abb. 35: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Das Poliovirus wurde sowohl nach Methode DIN EN 14476 als auch nach Methode DVV/RKI in Zellkultur 4, 6, 9 gezüchtet. Bei beiden Methoden fand Zellkultur 4 die häufigste Anwendung.

Abb. 34 und 35 zeigen, dass die durchschnittliche Reduktion des Poliovirus in Zellkultur 4 nach DIN EN 14476 deutlich geringer ausfiel und über einen wesentlichen kleineren Interquartilsabstand verfügte. Der durchschnittliche RF für Zellkultur 4 nach DIN EN 14476 beträgt 1,5 Ig-Stufen, während sich dieser nach DVV/RKI auf 2 Ig-Stufen beläuft. Im Vergleich zu Zellkultur 4 ist der durchschnittliche RF sowie der Interquartilsabstand des Poliovirus aus Zellkultur 9 sowohl nach DIN EN 14476 als nach DVV/RKI deutlich größer. So beträgt der durchschnittliche RF nach DIN EN 14476 4,25 Ig-Stufen und für DVV/RKI 3,39 Ig-Stufen. (Abb. 34, 35)

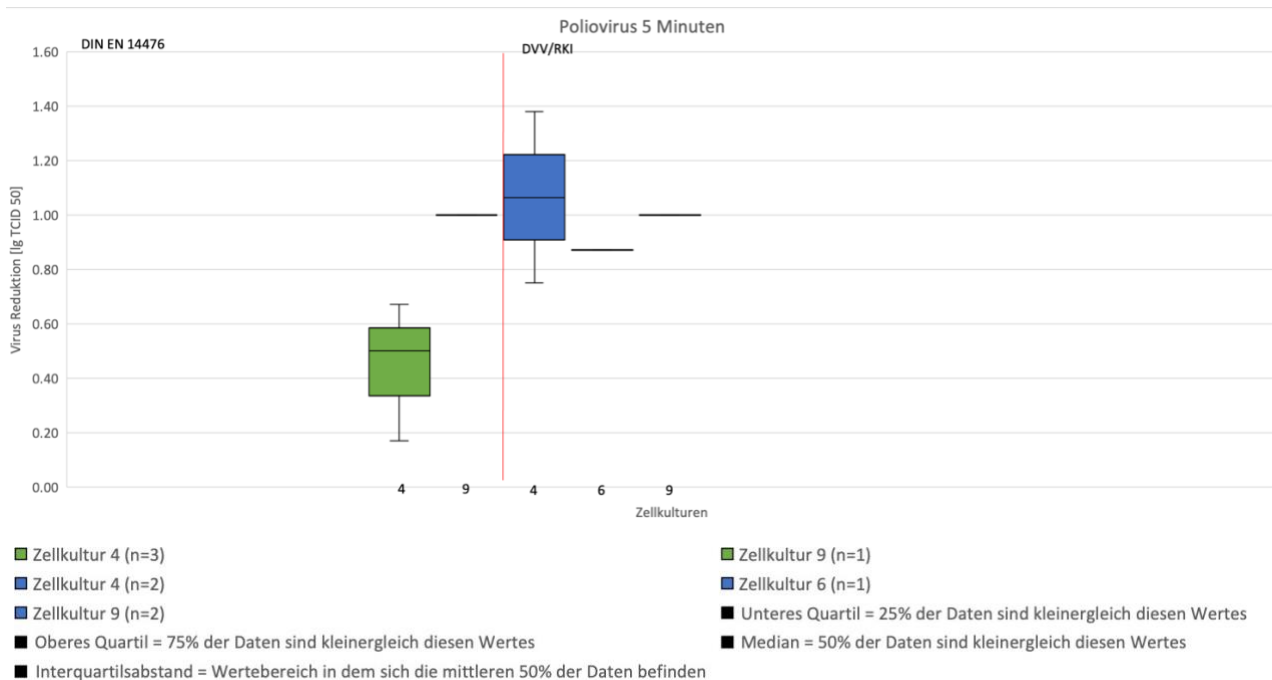


Abb. 36a : Virusreduktionen für Poliovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

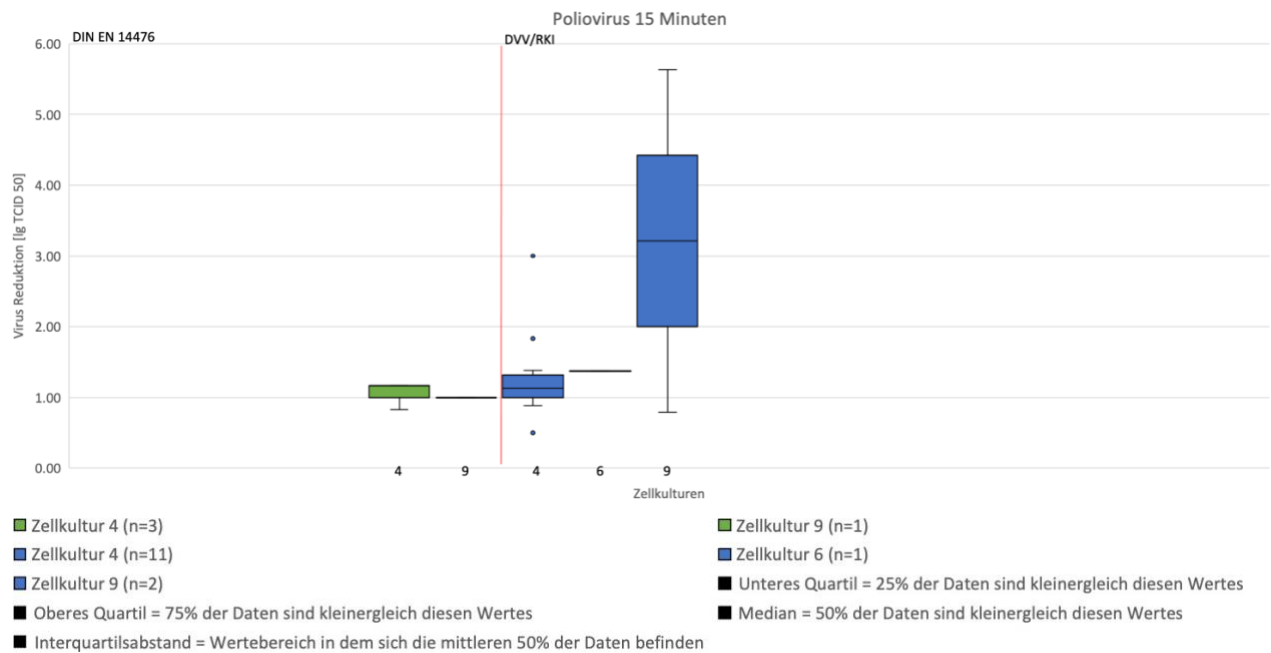


Abb. 36b: Virusreduktionen für Poliovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

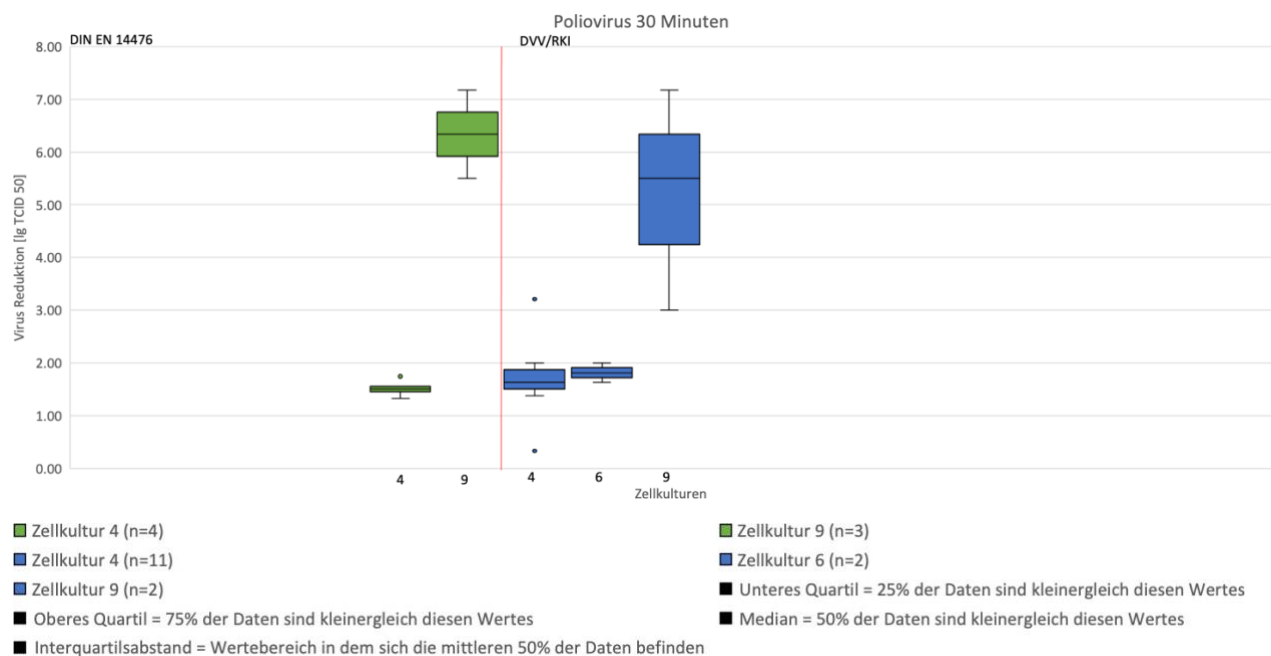


Abb. 36c: Virusreduktionen für Poliovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

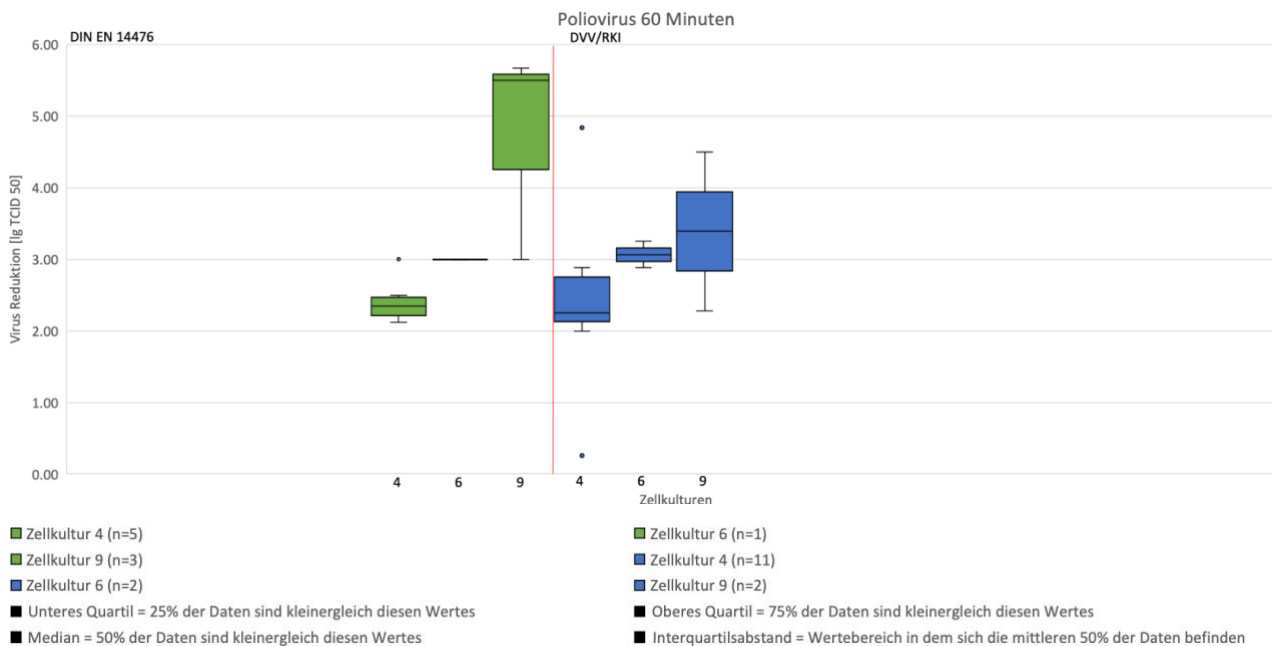


Abb. 36d: Virusreduktionen für Poliovirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 36a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 36a), 15 min (Abb. 36b), 30 min (Abb. 36c) und nach 60 min (Abb. 36d) in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Nach 5 min zeigte die durchschnittliche Reduktion bei dem Poliovirus, die in Zellkultur 4 gezüchtet worden sind, nach Methode DIN EN 14476 deutlich niedrigere Werte als nach DVV/RKI. So liegt der durchschnittliche RF für Prüfmethode DIN EN 14476 nach 5 min bei 0,5 lg-Stufen und für DVV/RKI bei 1,07 lg-Stufen. Bei dem Poliovirus aus Zellkultur 9 war die durchschnittliche Reduktion nach beiden Methoden exakt gleich groß. Nach 15 min war die durchschnittliche Reduktion des Poliovirus aus Zellkultur 4 bei beiden Methoden nahezu gleich. So beträgt der durchschnittliche RF nach DIN EN 14476 1,17 lg-Stufen und nach DVV/RKI 1,13 lg-Stufen. Hingegen zeigt die Auswertung bei dem Poliovirus aus Zellkultur 9 bei den Versuchen nach DVV/RKI deutlich höhere Werte mit einem sehr großen Interquartilsabstand.

Sowohl nach 30 min als auch nach 60 min lagen die durchschnittliche Reduktion der Zellkultur 4 bei beiden Testmethoden sehr nah beieinander. So liegen die durchschnittlichen Reduktionen nach 30 min nur 0,13 lg-Stufen und nach 60 min 0,1 lg-Stufen auseinander.

Bei Zellkultur 9 ist in denselben Zeitintervallen die durchschnittliche Reduktion nach DIN EN 14476 höher ausgefallen. So liegt die durchschnittliche Reduktion nach 30 min für DIN EN 14476 bei 3,64 Ig-Stufen und für DVV/RKI bei 5,5 Ig-Stufen. Nach 60 min liegt die durchschnittliche Reduktion für das Poliovirus aus Zellkultur 9 für DIN EN 14476 bei 5,5 Ig-Stufen und für DVV/RKI bei 3,39 Ig-Stufen (Abb. 36a - d).

3.6.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Poliovirus die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkomma Stellen genau angegeben. (Tab. 16, 17)

Tab. 16: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Poliovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI.

Virus	Poliovirus				
Methode	DVV/RKI				
Zeit in min	5	15	30	60	120
Mittelwert	1.884	1.58142857	1.88066667	2.63466667	3.6275
Standardabweichung	2.10935535	1.30506621	0.92849699	0.8729236	0.51651995
Stichprobengröße n	5	14	15	15	8
Standardfehler	0.94333239	0.34879362	0.23973689	0.2253879	0.18261738
Fehlergröße	1.84889375	0.68362153	0.46987472	0.44175127	0.35792276
95 % Konfidenzintervall	0.04 – 3.73	0.90 – 2.26	1.41 – 2.35	2.20 – 3.08	3.27 – 3.99

Tab. 17: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Poliovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476.

Virus	Poliovirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	0.585	1.375	3.10714286	3.18444444
Standardabweichung	0.34588052	0.65653129	2.32414654	1.39784755
Stichprobengröße n	4	4	7	9
Standardfehler	0.17294026	0.32826564	0.87844482	0.46594918
Fehlergröße	0.33895599	0.64338753	1.72171671	0.91324176
95 % Konfidenzintervall	0.25 – 0.92	0.73 – 2.02	1.39 – 4.83	2.27 – 4.10

3.6.5 Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die durchschnittliche Reduktion des Poliovirus bei den Suspensionsversuchen durch die Wahl des Testdesigns fiel auf, dass die Daten der Zellkulturen so schlecht verteilt waren, dass sowohl nach Methode DIN EN 14476 als auch nach Methode DVV/RKI diese als numerische Variabel in das Regressionsmodell einfließen und somit ihr Effekt als linear zu interpretieren galt. Bei den Suspensionsversuchen nach Methode DIN EN 14476 konnte kein Einfluss durch die Prüflabore und Zellkulturen festgestellt werden. (A11 siehe Anhang).

Die Suspensionsversuchen nach Methode DVV/RKI führten zum Ergebnis, dass bei den Zellkulturen in 99,99% die Null-Hypothese abgelehnt werden konnte und diese somit einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis haben. Leider konnte aufgrund der dürftigen Datenlage die Einflüsse der einzelnen Zellkulturen nicht näher bestimmt werden. Bei den Prüflaboren, konnte bei Prüflabor 4 ebenfalls zu 99,99% eine Nichteinflussnahme ausgeschlossen werden und bei Prüflabor 12 zu 98,05%. Die dazugehörigen Konfidenzintervalle sind aus A12 (siehe Anhang) zu entnehmen.

3.7 Polyomavirus

Die bei den Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu dem Polyomavirus werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf zur Einwirkzeit

betrachtet (siehe 3.7.1) und weiterführend nach Art des Prüflabors (unter 3.7.2) und des Zellkultursystems (siehe 3.7.3) differenziert einander gegenübergestellt.

3.7.1 Polyomavirus in Abhängigkeit der Einwirkungszeit

In den folgenden Abb. 37 und Abb. 38 wurden für Suspensionsversuche mit dem Polyomavirus die mittleren RF zu den jeweiligen Zeitintervallen ermittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt dargestellt. Somit ist der mittlere RF für die Prüfmethode nach DIN EN 14476 und DVV/RKI in Abb. 37 und Abb. 38 nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min sehr gut ablesbar.

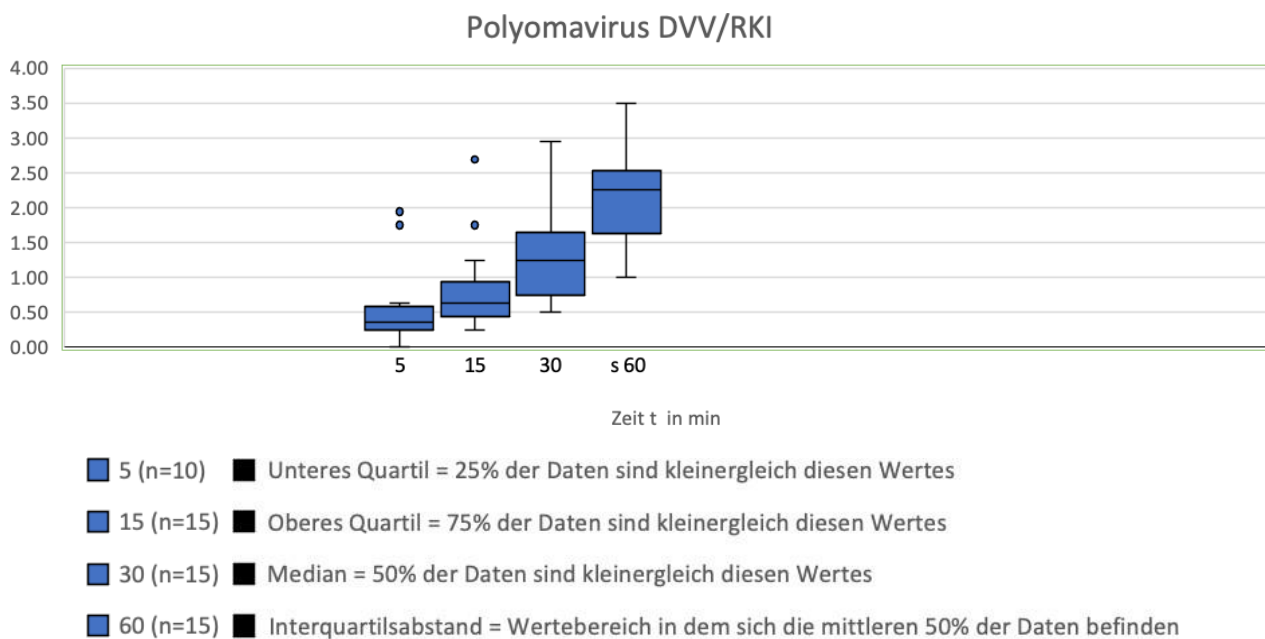


Abb. 37: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Polyomavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zeitintervalle. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

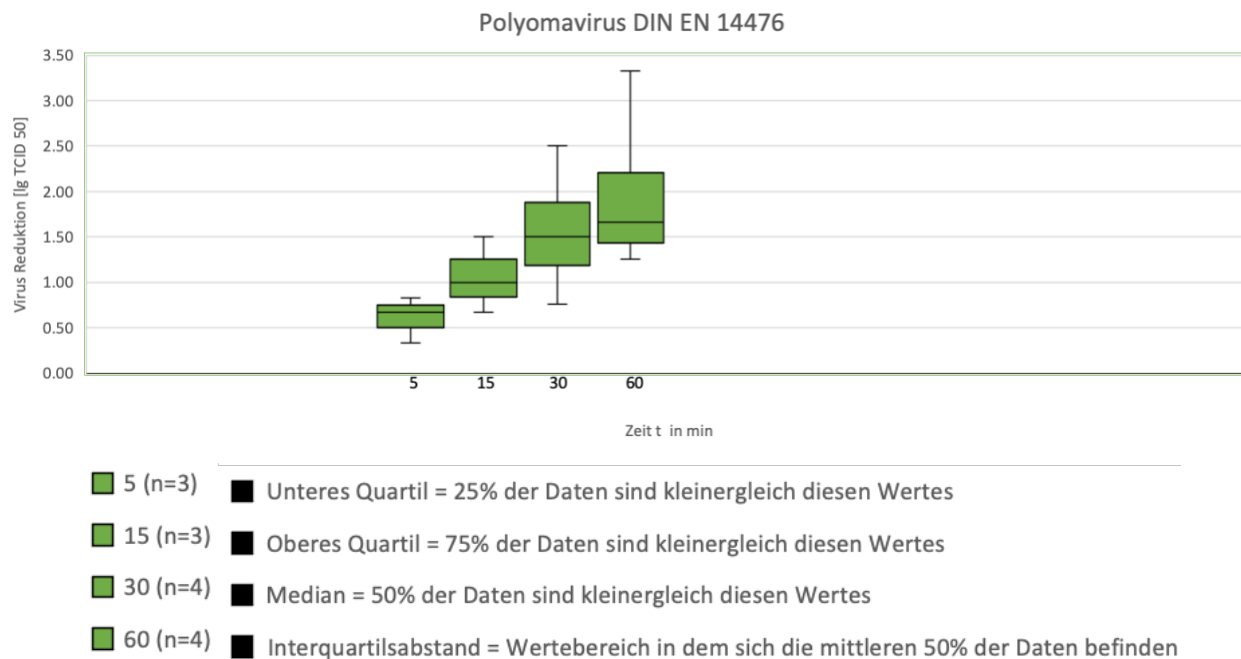


Abb. 38: Verteilung der Reduktionsstufen bei dem Polyomavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zeitintervalle. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Aus Abb. 37, 38 ist zu entnehmen, dass der überwiegende Anteil der Suspensionsversuche nach Testmethode DVV/RKI durchgeführt wurde. Bei beiden Methoden erfolgte eine gleichmäßige Verteilung auf die jeweilig geforderten Zeitintervalle. Auffällig ist, dass die Werte der durchschnittlichen Reduktion bei beiden Methoden sehr eng beieinander lagen. Generell fallen sie nach Methode DVV/RKI etwas kleiner aus. So liegt die durchschnittliche Reduktion für das Polyomavirus bei Testmethode DIN EN 14476 nach 5 min bei 0,67 lg-Stufen, während nach DVV/RKI diese bei 0,37 lg-Stufen liegt. Nach 15 min ist die durchschnittliche Reduktion nach DIN EN 14476 bei 1 lg Stufe und nach DVV/RKI bei 0,63 lg-Stufen. Nach 30 min fällt die durchschnittliche Reduktion nach DVV/RKI mit 1,25 lg-Stufen ebenfalls niedriger als nach DVV/RKI aus. Ausschliche Ausnahme bilden die Werte nach 60 min. So liegt der durchschnittliche Reduktionsfaktor nach DVV/RKI bei 2,25 lg-Stufen und nach DIN EN 14476 bei 1,67 lg-Stufen. Die Interquartilsabstände sind nach beiden Methoden nahezu gleich groß. So erstrecken sich diese nach DVV/RKI von 0,33 lg-Stufen nach 5 min bis 0,91 lg-Stufen nach 60 min und nach DIN EN 14476 von 0,25 lg-Stufen nach 5 min bis 0,77 lg-Stufen nach 60 min.

3.7.2 Polyomavirus in Abhängigkeit der Prüflabore

Im Folgenden werden die mittleren RF des Polyomavirus separat nach Einwirkzeit auf die beauftragten Prüflabore aufgeteilt und die verwendeten Testmethoden werden vergleichend gegenübergestellt. So lassen sich die Schwankungen innerhalb und zwischen den Laboren gut sichtbar darstellen.

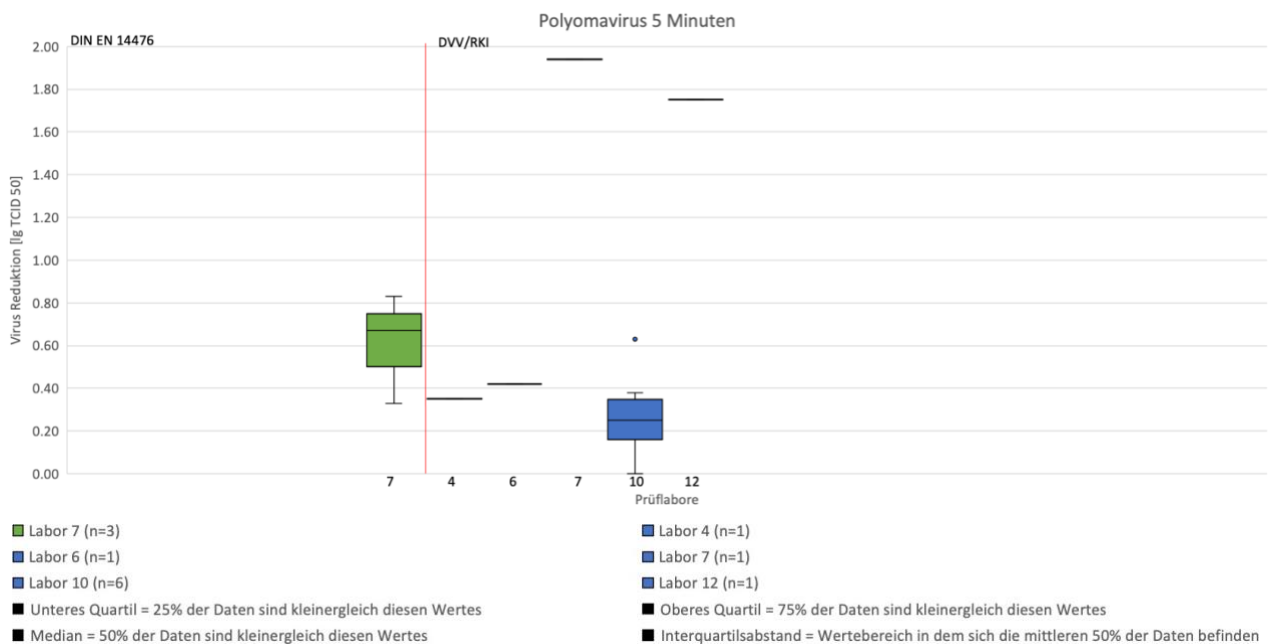


Abb. 39a: Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflaboren bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

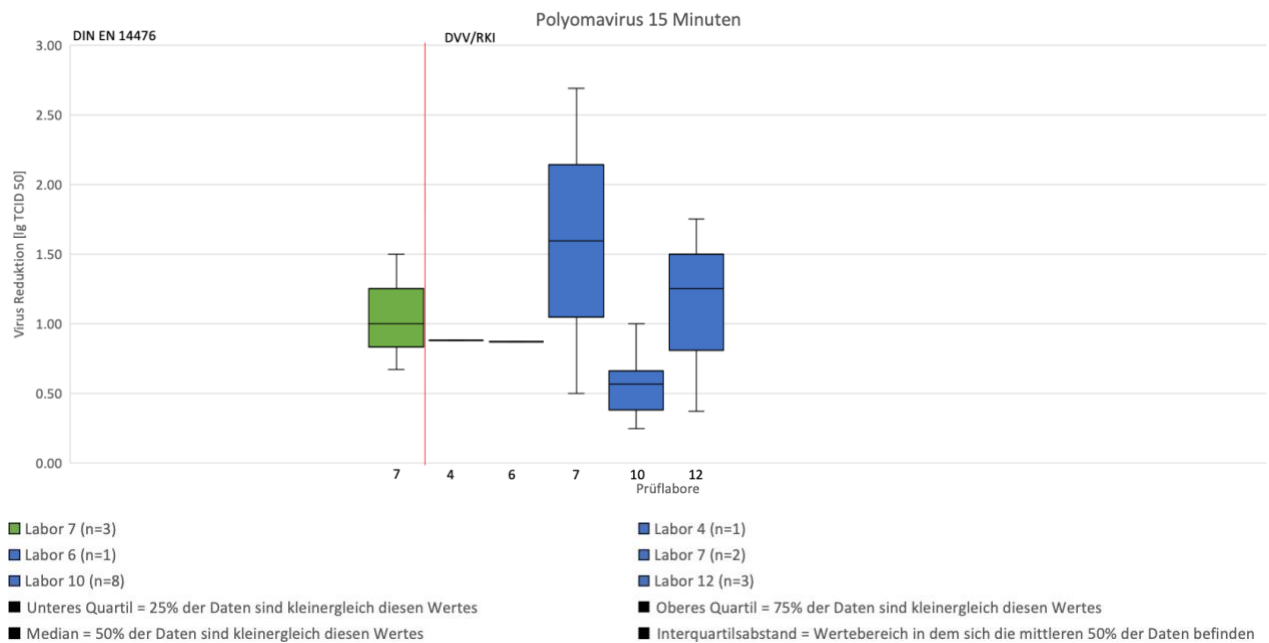


Abb. 39b : Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflaboren bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

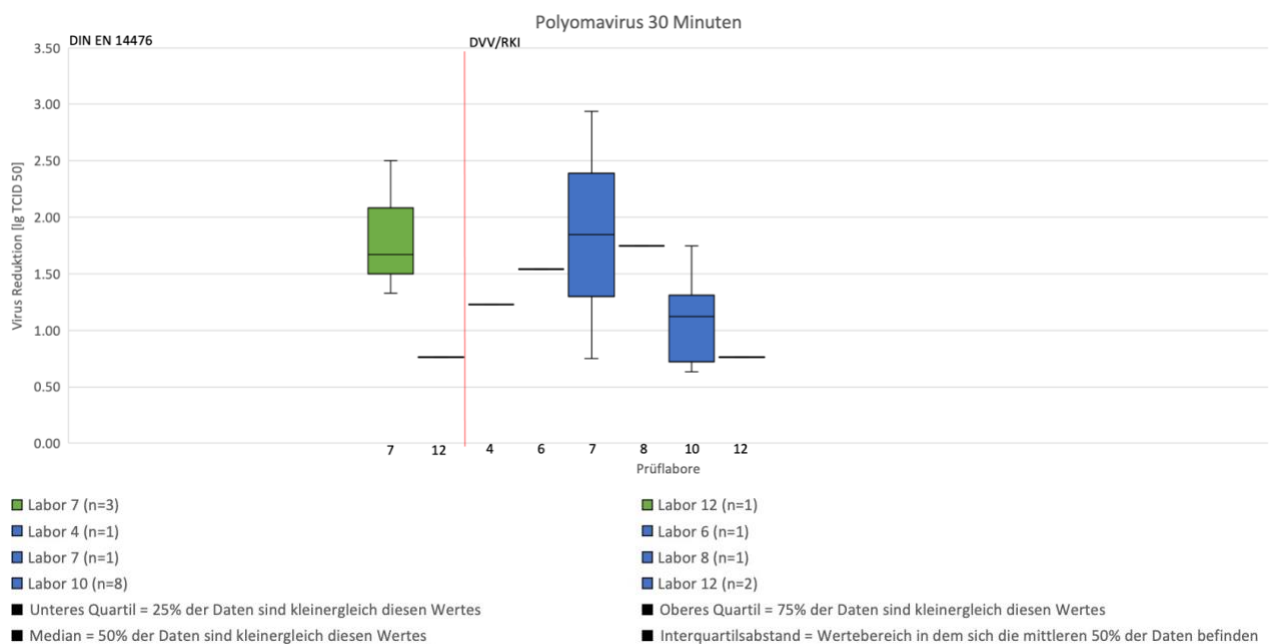


Abb. 39c : Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflaboren bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

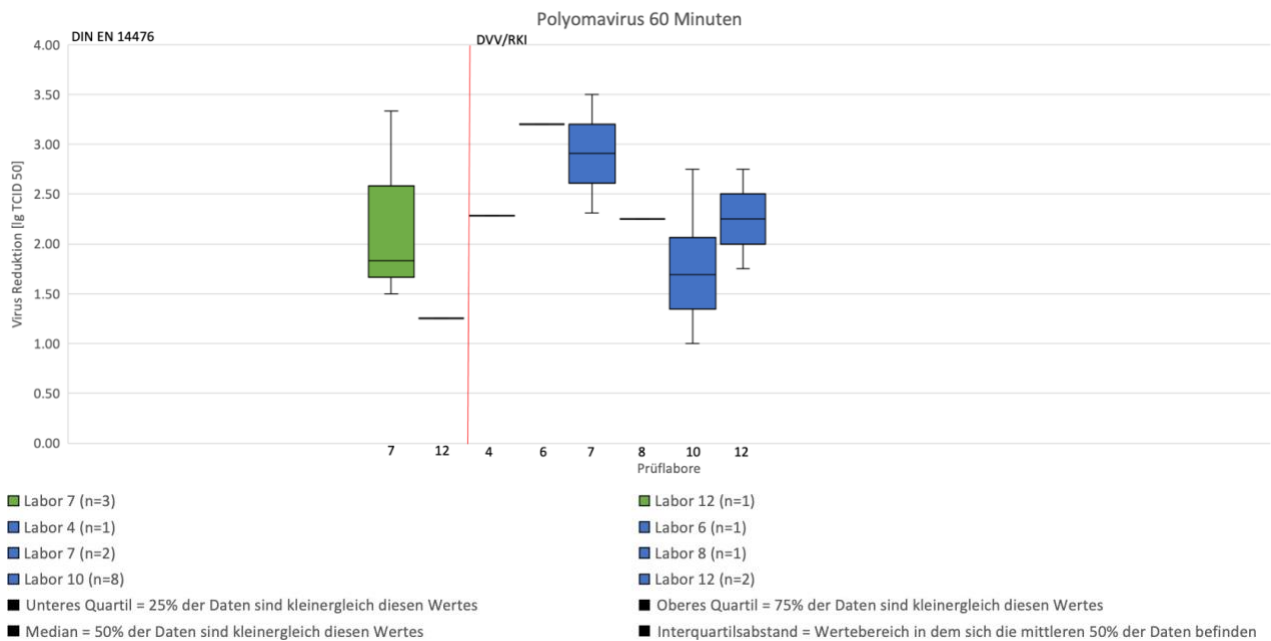


Abb. 39d : Virusreduktionen für Polyomavirus als lg TCID₅₀ der unterschiedlichen Prüflaboren bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 39a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Polyomavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 39a), 15 min (Abb. 39b), 30 min (Abb. 39c) und nach 60 min (Abb. 39d) in Bezug auf die Prüflabore. Dabei gibt n die Anzahl der vorliegenden Testergebnisse an.

Abb. 39a – d zeigen, dass über alle Zeitintervalle hinweg, die durchschnittliche Reduktion nach Methode DVV/RKI für Prüflabor 7 deutlich höher liegt. So liegen die durchschnittlichen RF nach DVV/RKI von dem Polyomavirus in Prüflabor 7 nach 5 min bei 1,94 lg-Stufen, nach 15 min bei 1,6 lg-Stufen, nach 30 min bei 1,85 lg-Stufen und nach 60 min bei 2,91 lg-Stufen. Währenddessen liegen die durchschnittlichen RF nach DIN EN 14476 nach 5 min bei 0,67 lg-Stufen, nach 15 min bei 1 lg Stufe, nach 30 min bei 1,67 lg-Stufen und nach 60 min bei 1,83 lg-Stufen.

Ebenso fielen die Interquartilsabstände nach Methode DVV/RKI in dem Zeitintervall 15 min und 30 min deutlich größer aus als nach Methode DIN EN 14476.

3.7.3 Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

In diesem Abschnitt werden zunächst die mittleren RF des Polyomavirus bei Anwendung unterschiedlicher Zellkultursysteme ermittelt und je nach Art der Testmethode in Abb. 40

und Abb. 41 getrennt dargestellt. Dies ermöglicht erste Vergleiche wie sich der RF bei unterschiedlichen Zellkulturen unter verschiedenen Testbedingungen verhält. Danach werden die gemittelten RF der Zellkultursysteme nach Einwirkzeit berechnet, und weiter in Abb. 42a - d dargestellt. Aussagen bezüglichlicher Einflussnahmen auf den RF können u.U. somit weiter präzisiert werden.

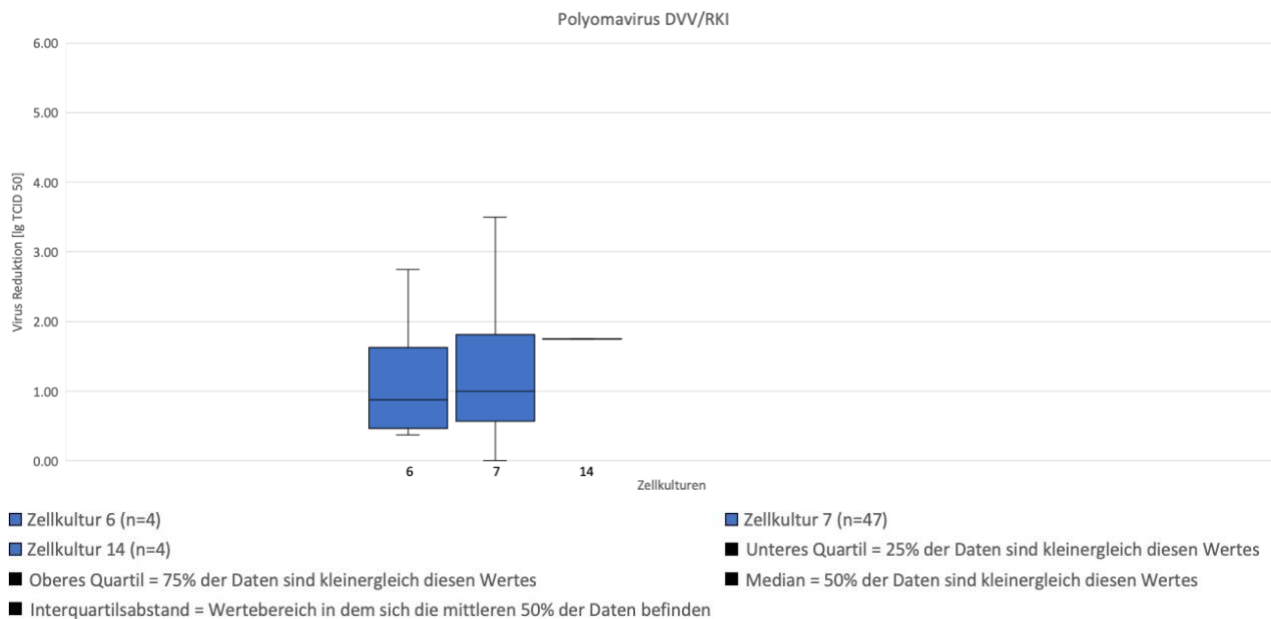


Abb. 40: Verteilung der Reduktion des Polyomavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

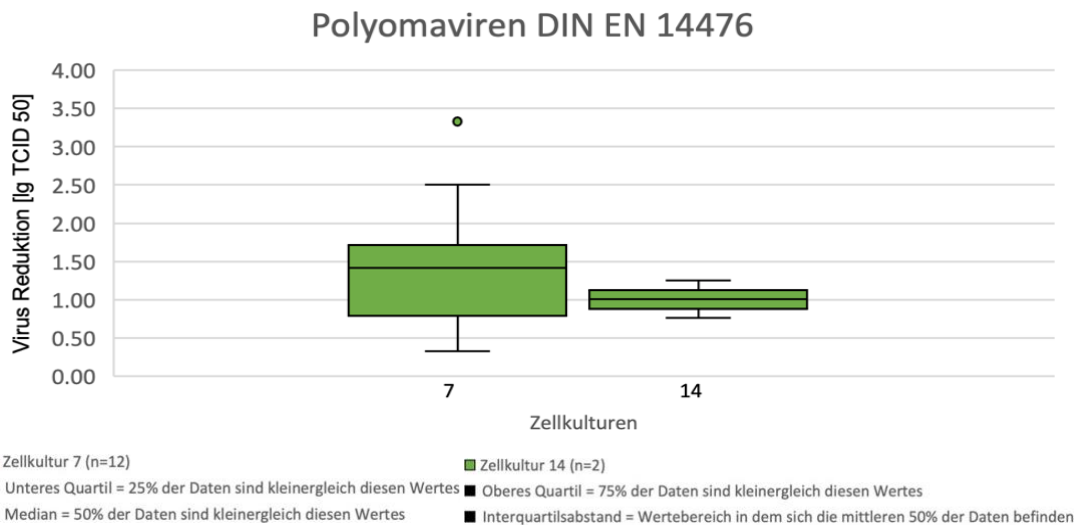


Abb. 41: Verteilung der Reduktion des Polyomavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Das Polyomavirus in Anwendung nach Methode DIN EN 14476 wurde in Zellkultur 7 und 14 gezüchtet und nach Methode DVV/RKI zusätzlich in Zellkultur 6. Bei beiden Methoden war ein deutlicher Schwerpunkt bei den Versuchen auf Zellkultur 7 zu erkennen.

Bei Zellkultur 7 fiel nach Methode DIN EN 14476 sowohl die durchschnittliche Reduktion des Polyomavirus als auch der Interquartilsabstand wesentlich höher aus als bei den Versuchen nach DVV/RKI. So liegt die durchschnittliche Reduktion des Polyomavirus aus Zellkultur 7 nach Testmethode DIN EN 14476 bei 1,42 Ig-Stufen und nach Testmethode DVV/RKI bei 1 Ig Stufe.

Bei Zellkultur 14 hingegen führte das Ergebnis der durchschnittlichen Reduktion nach Methode DIN EN 14476 mit 1,01 Ig-Stufen zu einem etwas niedrigeren Wert als nach DVV/RKI.

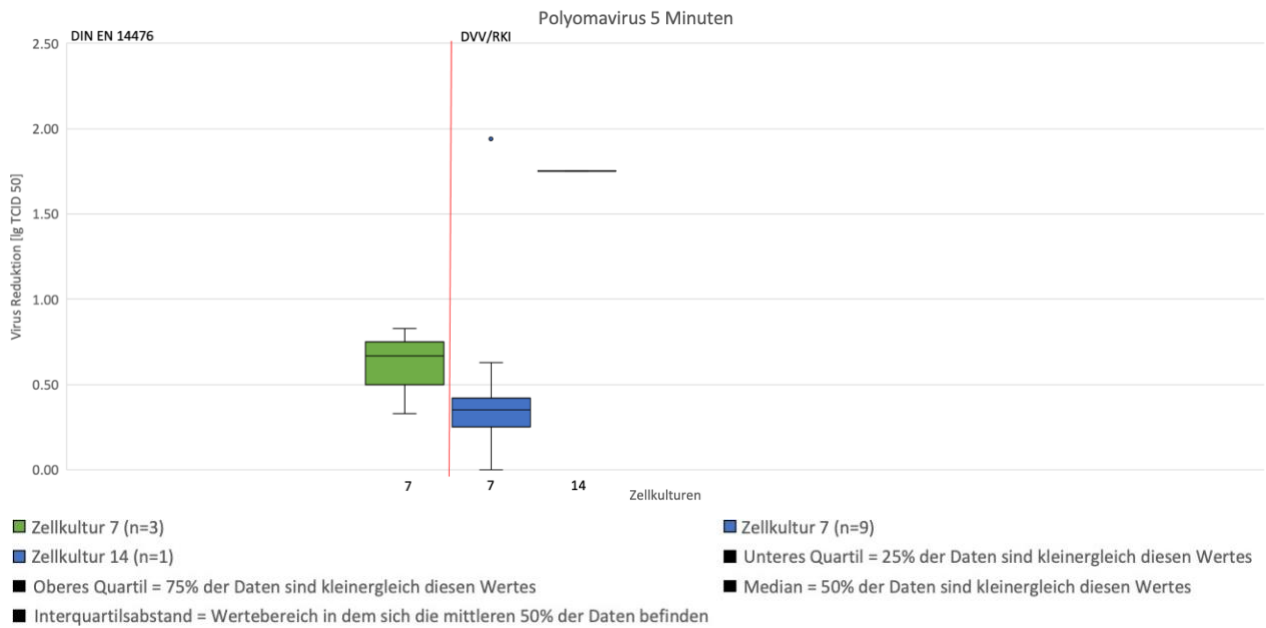


Abb. 42a : Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 5 min.

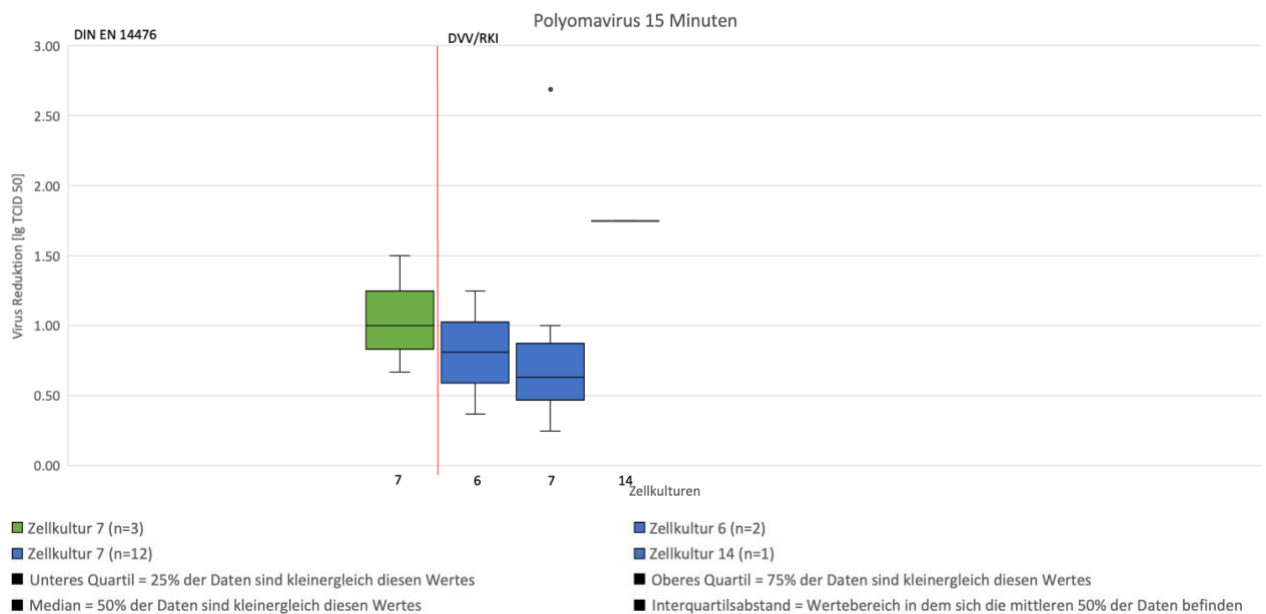


Abb. 42b: Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 15 min.

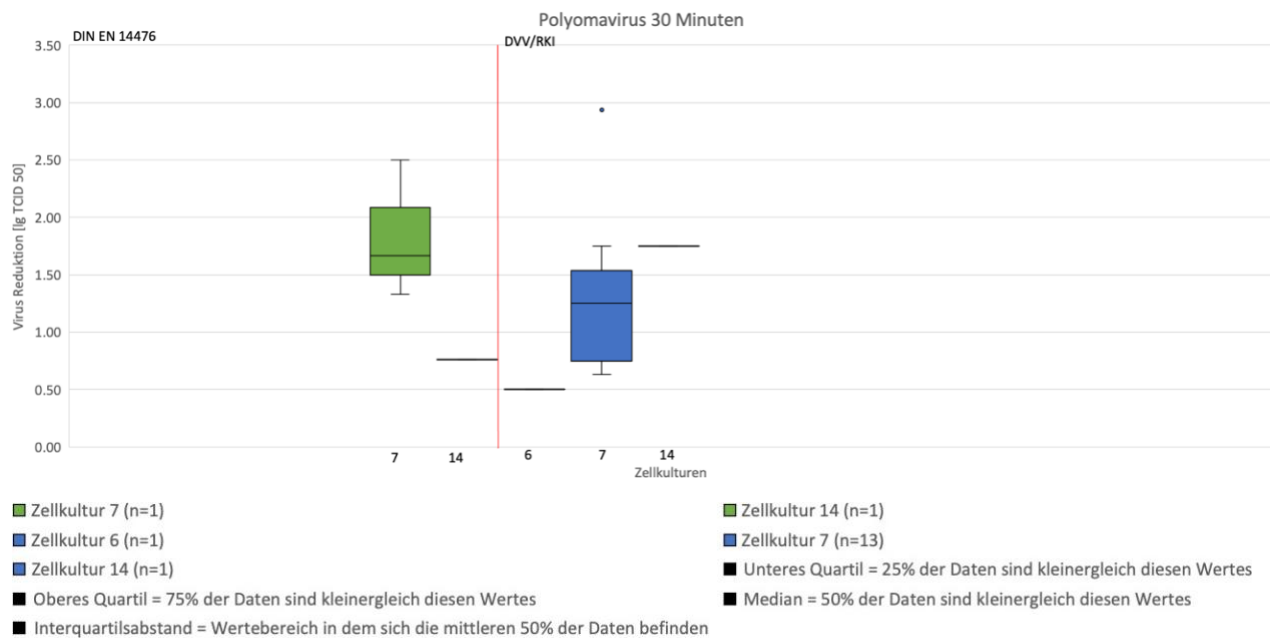


Abb. 42c: Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 30 min.

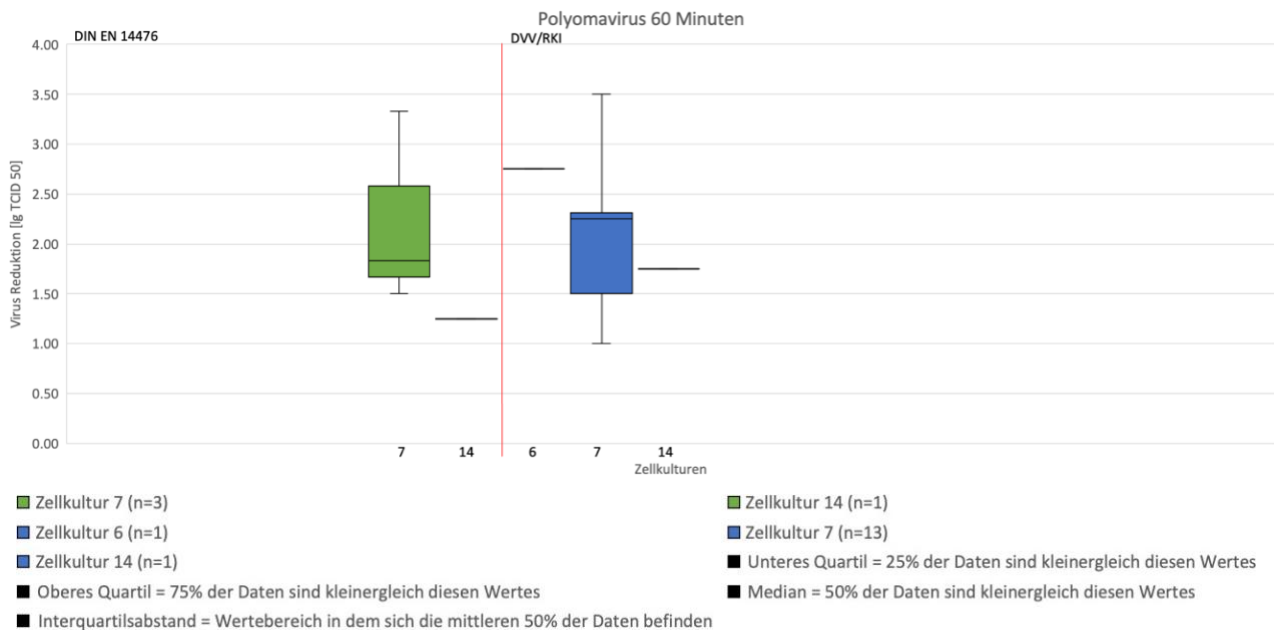


Abb. 42d: Virusreduktionen für Polyomavirus als Ig TCID₅₀ der unterschiedlichen Zellkulturen bei Behandlung mit 0,7% Formaldehyd über 60 min.

Abb. 42a-d: Gegenüberstellung der Reduktionsstufen bei dem Polyomavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 (grün) und DVV/RKI (blau) nach 5 min (Abb. 42a), 15 min (Abb. 42b), 30 min (Abb. 42c) und nach 60 min (Abb. 42d) in Bezug auf die Zellkulturen. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Nach Abb. 42a - d liegt der Wert der durchschnittlichen Reduktion bei dem Polyomavirus aus Zellkultur 7 nach Methode DVV/RKI zu jedem Zeitintervall niedriger als bei den Versuchen nach Methode DIN EN 14476. Einzige Ausnahme bildete der Messwert nach 60 min. So liegt der mittlere RF für das Polyomavirus aus Zellkultur 7 in den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 für 5 min bei 0,67 Ig-Stufen, nach 15 min bei 1 Ig Stufe, nach 30 min bei 1,67 Ig-Stufen und nach 60 min bei 1,83 Ig-Stufen. Währenddessen liegt der durchschnittliche RF für das Polyomavirus in den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI nach 5 min bei 0,35 Ig-Stufen, nach 15 min bei 0,63 Ig-Stufen, nach 30 min bei 1,25 Ig-Stufen und nach 60 min bei 2,25 Ig-Stufen.

3.7.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Polyomavirus wurden die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkomma Stellen genau angegeben (Tab. 18,19).

Tab. 18: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Polyomavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI.

Virus	Polyomavirus			
Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	0.61	0.855333333	1.281333333	2.136666667
Standardabweichung	0.673894156	0.641592513	0.634269734	0.712547409
Stichprobengröße n	10	15	15	15
Standardfehler	0.213104043	0.165658474	0.163767741	0.18397895
Fehlergröße	0.417675401	0.324683984	0.320978222	0.360591382
95 % Konfidenzintervall	0.19 – 1.03	0.53 – 1.18	0.96 – 1.60	1.77 – 2.50

Tab. 19: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Polyomavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476

Virus	Polyomavirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	0.61	1.05666667	1.565	1.9775
Standardabweichung	0.25534291	1	0.72766751	0.93242962
Stichprobengröße n	3	3	4	4
Standardfehler	0.1474223	0.57735027	0.36383375	0.46621481
Fehlergröße	0.2889418	1.13158343	0.7130996	0.91376238
95 % Konfidenzintervall	0.32 – 0.90	-0.07 – 2.19	0.85 – 2.28	1.06 – 2.89

3.7.5 Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Bei der Untersuchung der möglichen Einflussgrößen auf die durchschnittliche Reduktion des Polyomavirus bei den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI durch die Wahl des Testdesigns mussten aufgrund der Datenlage die Zellkulturen als lineare Variabel zusammengefasst werden. Dennoch konnten mit Hilfe des linear gemischten Regressionsmodells keine signifikanten Einflüsse weder durch die Zellkulturen noch durch die Prüflabore nachgewiesen werden.

Bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach Methode DIN EN 14476 war die Datenlage ungenügend, sodass die Prüflabore und Zellkulturen des Polyomavirus nicht auf ihre Einflussgröße untersucht werden konnte (A13 siehe Anhang).

3.8 Rotavirus

Die bei den Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 gemittelten RF zu den Rotaviren werden zunächst getrennt nach Testmethode im zeitlichen Verlauf zur Einwirkzeit betrachtet (siehe 3.8.1) und weiterführend nach Art des Prüflabors (siehe 3.8.2) und des Zellkultursystems (siehe 3.8.3) differenziert einander gegenübergestellt.

3.8.1 Rotavirus in Abhängigkeit der Einwirkungszeit

In den folgenden Abb.43 wurden für Suspensionsversuche mit Rotavirus die mittleren RF zu den jeweiligen Zeitintervallen ermittelt und nach Art der Testmethode aufgeteilt

dargestellt. Somit ist der mittlere RF für die Prüfmethode nach DIN EN 14476 und DVV/RKI in Abb. 43 nach 5, 15, 30 und 60 min sehr gut ablesbar.

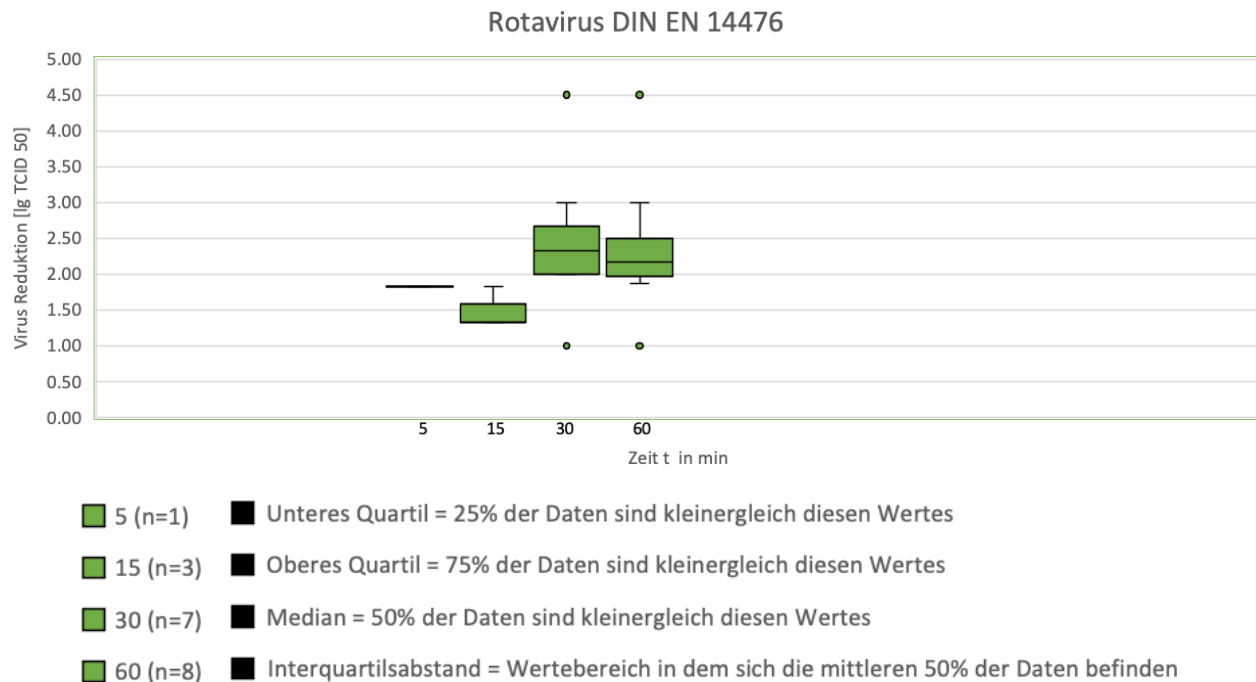


Abb. 43: Verteilung der Ergebnisse aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 zu dem Rotavirus auf die Einwirkungszeit. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Die Versuche mit dem Rotavirus fanden nahezu ausschließlich nach Methode DIN EN 14476 statt. Es gab nur einen einzigen Versuch nach den Richtlinien DVV/RKI. Daher werden in den folgenden Abschnitten lediglich die Ergebnisse nach DIN EN 14476 beschrieben.

Die durchschnittliche Reduktion nach Methode DIN EN 14476 war in ihrem Wert nach 5 min mit 1,83 Ig-Stufen höher als nach 15 min, wo die durchschnittliche Reduktion 1,33 Ig-Stufen beträgt. Erstaunlicherweise fällt die durchschnittliche Reduktion nach 30 min ebenfalls höher aus als nach 60 min.

3.8.2 Rotavirus Prüflabor

Die Datenlage zu den Prüflaboren des Rotavirus ist unzureichend, sodass keine graphische Veranschaulichung und demnach sich auch keine Aussagen über die Prüflabore treffen lassen.

3.8.3 Rotavirus in Abhängigkeit der Zellkultursysteme

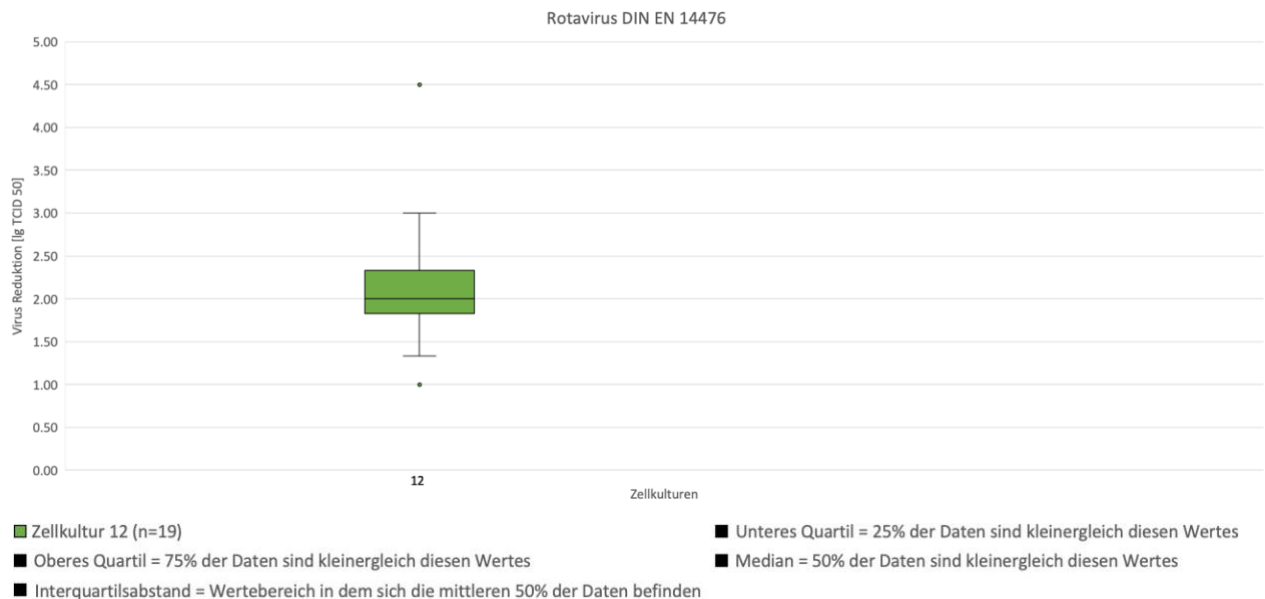


Abb. 44: Verteilung der Ergebnisse aus den Suspensionsversuch Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476 in Bezug auf die verwendeten Zellkulturen bei der Züchtung des Rotavirus. Dabei gibt n die absolute Anzahl der Testergebnisse an.

Das Rotavirus nach DIN EN 14476 wurden nur auf Zellkultur 12 gezüchtet. So betrug die durchschnittliche Reduktion 2 lg-Stufen bei sehr geringen Interquartilsabständen. (Abb. 44)

3.8.4 Erhebung der 95% Konfidenzintervalle

Anhand der Universität Bonn vorliegenden Prüfberichte und Gutachten wurden zu den Suspensionsverfahren Phase 2 Stufe 1 mit dem Rotavirus wurden die Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 und DVV/RKI berechnet und auf bis zu zwei Nachkomma Stellen genau angegeben. (Tab. 20)

Tab. 20: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Rotavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476

Virus	Rotavirus			
Methode	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Mittelwert	-	1.49666667	2.45142857	2.37875
Standardabweichung	-	0.28867513	1.08330403	1.02379459
Stichprobengröße n	-	3	7	8
Standardfehler	-	0.16666667	0.40945044	0.36196605
Fehlergröße	-	0.32666	0.80250648	0.70943897
95 % Konfidenzintervall	-	1.17 – 1.82	1.65 – 3.25	1.67 – 3.09

3.8.5 Untersuchung auf Einflussnahme durch die Wahl des Testdesigns

Aufgrund der geringen Datenlage bei der Durchführung der Versuche mit verschiedenen Zellkulturen, war eine Analyse mittels des gemischten linearen Regressionsmodel leider nicht möglich. Daher konnten die Suspensionsversuche nach DIN EN 14476 nicht auf mögliche Einflussgrößen durch Zellkultur und Prüflabor nicht untersucht werden.

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war, die Bestimmung möglicher Einflussgrößen durch die Wahl der Rahmenbedingungen bei der Viruzidietestung zu evaluieren und zu den jeweiligen Faktoren die 95% Konfidenzintervalle zu bestimmen, sodass für Versuche unterschiedlicher Art feste Kenngrößen festgelegt werden können. Im Folgenden wird die Einschränkung der Ergebnisse dargestellt, sowie eine endgültige Hypothese aufgestellt.

4.1 Aufstellung der Hypothesen

Wir formulierten unsere erste Hypothese, dass die Wahl der Prüflabore und Zellkulturen einen signifikanten Einfluss auf die Virustiterreduktion mit 0.7% Formaldehyd als Referenzsubstanz bei den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 ausüben.

Desweiteren war unsere Zielsetzung die dazugehörigen 95% Konfidenzintervalle so zu definieren, dass zukünftig ein auf das Testdesign individuell zugeschnittener Reduktionsbereich angegeben werden kann.

Daher stellten wir eine zweite Hypothese auf, die besagte, dass anhand der Datenbank, die auf der Grundlage, der beim Verbund für angewandte Hygiene eingereichten Gutachten und Prüfberichten erstellt worden ist, sich die von DVV/RKI und DIN herausgegebenen Referenzbereiche weiter präzisieren lassen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Diskussion der Ergebnisse zu dem Vacciniavirus

4.2.2.1 Deskriptive Statistik

Aus Abb.1 und 2 ließ sich ableiten, dass die durchschnittliche Reduktion bei dem Vacciniavirus aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 nach Methode DVV/RKI wesentlich geringer ausfiel und weniger streute. Dabei war zu berücksichtigen, dass nach Methode DIN EN 14476 hauptsächlich das MVA zum Einsatz kamen und nach Methode DVV/RKI überwiegend das VVE. Bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476

zeigte VVE einen signifikanten Einfluss auf die Reduktion. Somit ließ sich die Beobachtung von Abb.1 und 2 nicht ohne weiteres bestätigen.

Bei der Gegenüberstellung der Zellkulturen unter 3.1.2 war die in Abb. 4 und 5 aufgeführte Verteilung der Häufigkeiten zu berücksichtigen. Ein Großteil der Daten konzentrierte sich auf Zellkultur 5 und 10. Bei den restlichen Zellkulturen lagen Datensätze nur in einem niedrig einstelligen Bereich vor. Besonders kam dies unter Berücksichtigung der zeitlichen Reduktionsintervalle zum Ausdruck (Abb. 6a-d). Anhand der deskriptiven Statistik konnte daher keine treffende Aussage hinsichtlich der Einflussnahme der Zellkulturen formuliert werden.

Die Anzahl der Suspensionsversuche war, mit Ausnahme von Prüflabor 7 nach DIN EN 14476 und Prüflabor 10 nach DVV/RKI, auf alle Prüflabore gleichmäßig verteilt. Die absolute Häufigkeit der Versuche pro Prüflabor war allerdings sehr niedrig (Tab.2 und A2). Besonders deutlich wurde dies bei Berücksichtigung der Zeitintervalle (Abb. 3a-d). Daher konnten auch hier keine aussagekräftigen Rückschlüsse aus der deskriptiven Statistik gezogen werden.

Eine inhomogene Verteilung der Messwiederholungen, sowohl bei den Zellkulturen als auch bei den Prüflaboren machte es zudem unmöglich aus den Graphiken einheitliche Tendenzen herauszufiltern.

4.2.2.2 Analytische Statistik

Bei der Untersuchung möglicher Einflussgrößen auf die Reduktion des Vacciniavirus bei Suspensionsversuchen nach Methode DIN EN 14476 fiel auf, dass sowohl das VVE sowie das Prüflabor 2 einen signifikanten Einfluss zeigten.

Bei den errechneten Konfidenzintervallen zu Prüflabor 2 bei dem Vacciniavirus nach DIN EN 14476 war die untere Grenze sinngemäß auf 0 hochzustufen, da die Reduktion in der Praxis nicht kleiner 0 werden kann. Auch wenn die errechneten 95% Konfidenzintervalle weit außerhalb der tatsächlich gemessenen Reduktionsfaktoren lagen, waren diese aufgrund der Streuung der Datenlage dennoch als zutreffend zu beurteilen. Davon abgesehen war ein derartig breites Konfidenzintervall nicht von sonderlich hoher Aussagekraft, weswegen dieses als weniger gebräuchlich einzustufen ist.

Ebenfalls war bei diesem gemischten linearen Regressionsmodell das adjustierte $\bar{R}^2$ von 0,196 zu berücksichtigen. Das adjustierte $\bar{R}^2$ gibt an, wieviel Prozent der Ergebnisse durch die unabhängigen Variablen erklärt werden können. Anhand des adjustierten $\bar{R}^2$ von 0,196 konnte in diesem Modell folglich nur 19,6% der Reduktionsfaktoren mit den Einflüssen von Prüflabor und Zellkultur erklärt werden. Aufgrund des niedrigen $\bar{R}^2$ waren die Einflussgröße von Prüflabor 2, sowie des VVE weiterhin zu relativieren (Tab. 3).

Bei den Suspensionsversuchen nach Methode DVV/RKI zu dem Vacciniavirus, ergab die Untersuchung auf mögliche Einflussfaktoren, dass Prüflabor 14 in 99.26% einen Einfluss auf die Reduktionsstufe zeigte. Auch hier galt bei den errechneten Konfidenzintervallen die untere Grenze sinngemäß auf 0 anzuheben. Dennoch zeigte sich ein Konfidenzintervall, welches über eine große Spannweite verfügte und dadurch wenig Aussagekraft zeigte. Bei der Betrachtung des adjustierten $\bar{R}^2$ fiel auf, dass mit Hilfe des linear gemischten Regressionsmodells knapp 61% ($\bar{R}^2 = 0,6081$) der Ergebnisse mit unabhängigen Variablen erklärt werden konnten. Dies bedeutete, dass der Einfluss von Prüflabor 14 nicht als geringfügig zu bewerten war (A2 siehe Anhang).

Interessanterweise lagen die unter 3.1.1.4 berechneten 95% Konfidenzintervalle des Vacciniavirus aufgrund ihrer hohen Datenlage sowohl nach Methode DVV/RKI als auch nach Methode DIN EN 14476 sehr nah beieinander. Somit eigneten sie sich als Referenzbereich ausgesprochen gut. Darüber hinaus sind in der aktuellen Literatur vergleichbare Reduktionsfaktoren aufzufinden. So zeigen die Ergebnisse von Bust U. et al 2012 sowohl für VACV als auch für MVA nach DVV/RKI, dass der Reduktionsfaktor nach 5 min zwischen $1,15 \pm 0,28$ und 2,09 nach 30 min zwischen 2,14 und 2,62 und nach 60 min zwischen 2,14 und 3,16 log Stufen lag. Auch Hanisch M. et al 2015 führten in ihren Untersuchungen an, dass nach DVV/RKI Richtlinien mit 2% Formaldehyd es bei 25°C / 37°C bzw. 25°C / 60°C (bei diesen Versuchen wurde nach der Hälfte der Einwirkzeit die Temperatur von 25°C auf 37°C bzw. von 25°C auf 60°C erhöht) nach bereits 30 Minuten zu einer kompletten Virusreduktion kam. Bei konstanten 37°C konnte dies ebenfalls nach 30 min und 60 min Einwirkzeit erzielt werden. Auch wenn nach Hanisch M. et al 2015 die Konzentration an Formaldehyd deutlich höher lag, zeigt es, dass die von uns errechneten 95% Konfidenzintervalle sich sehr gut eignen lassen, um anhand von ihnen neue Richtwerte für die Viruzidieprüfung festzulegen. Für die Suspensionsverfahren Phase 2

Stufe 1 mit dem Vacciniavirus nach Methode DIN EN 14476 ließen sich die vorgegebenen Referenzbereiche in meine Arbeit nicht nur weiter einschränken, sondern es konnten auch bei 30 min und 60 min neue Referenzbereiche generiert werden. Für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach Methode DVV/RKI konnten anhand der errechneten Konfidenzintervalle neue Richtstandards bestimmt und festgelegt werden.

4.2.3 Diskussion der Ergebnisse zu Bovines Viral Diarrhoe Virus

4.2.3.1 Deskriptive Statistik

Abb. 7 und 8 zeigen deutlich, dass die durchschnittliche Reduktion bei dem BVDV nach Methode DVV/RKI wesentlich geringer ausfiel als nach Methode DIN EN 14476. Zudem war eine geringere Streuung zu erkennen. Trotz der höheren Anzahl an Messwiederholungen bei Methode DVV/RKI fielen hier die Interquartilsabstände wesentlich kleiner aus. Auffällig war die recht hohe Streuung der Reduktionswerte bei Methode DIN EN 14476. Dies war durch die niedrige Anzahl an Messungen ($n=4$) zu erklären, da bei einer geringen Anzahl an Wiederholungen einzelne Unterschiede mehr ins Gewicht fallen.

Bei den Ergebnissen der Prüflabore fiel auf, dass Prüflabor 3 und 4 nach Methode DIN EN 14476 trotz der wenigen Messwiederholungen durchschnittlich höhere Reduktionsstufen erzielten als nach Methode DVV/RKI. Auch hier übten bei einer niedrigen Anzahl an Versuchen die einzelnen Ausreißer einen größeren Einfluss aus. Wie aus A14 zu entnehmen war, lag eine ungleiche Datenverteilung nach Methode DVV/RKI zu den Prüflaboren vor. Die Datenlage bei Prüflabor 3, 4 und 7 war vergleichbar, auch wenn diese nur dürftig ausfiel

Die Abb. 9a – d zeigten, dass innerhalb der Reduktionszeitintervalle oft nur einzelne Messwerte miteinander verglichen werden konnten. Daher war es nicht möglich aussagekräftige Rückschlüsse zu ziehen.

Aus Abb. 10 und 11 ließ sich die Tendenz ableiten, dass bei beiden Methoden die Reduktion des BVDV bei den Zellkultur 15 deutlich höher ausfiel als bei dem BVDV aus Zellkultur 11. Diese Aussage traf ebenso bei den Messungen mit den unterschiedlichen

Zeitintervallen zu. Anhand der Datenbank wurde schnell sichtbar, dass es nur einen einzigen Versuch zu Zellkultur 15 gab, bei denen die einzelnen Reduktionswerte sehr hoch ausfielen. Dies trug maßgeblich dazu bei, dass Zellkultur 15 einen signifikanten Einfluss auf die Reduktion zeigte.

4.2.3.2 Analytische Statistik

Bei der Untersuchung möglicher Einflussgrößen auf die Reduktion des BVDV bei Suspensionsversuchen nach Methode DVV/RKI fiel auf, dass Zellkultur 15 einen signifikanten Einfluss zeigte. Bei dem errechneten 95% Konfidenzintervall musste die untere Grenze zwar sinngemäß nicht auf 0 angehoben werden, fiel aber dennoch sehr breit aus. Darüber hinaus musste auch bei diesem linearen Regressionsmodell das adjustierte R^2 von 0.364 berücksichtigt werden, mit dem grade mal 36.4% der Reduktion durch die unabhängigen Variablen erklärt werden konnte. Daraus ergab sich, dass die Einflüsse durch Zellkultur 15 als sehr aussageschwach einzustufen waren (A4, siehe Anhang).

Die aus Tab. 8 errechneten 95% Konfidenzintervalle zu dem BVDV nach Methode DVV/RKI lagen aufgrund der hohen Datenmenge sehr eng beieinander und eigneten sich daher ausgesprochen gut als Referenzbereich für zukünftige Versuche. Leider fiel die Datenlage bei dem BVDV nach Methode DIN EN 14476 vergleichend gering aus, weswegen die 95 % Konfidenzintervalle bei 15 min, 30 Minute und 60 min etwas größer ausfielen.

Bei der Untersuchung auf mögliche Einflüsse durch die Wahl der Prüflabore und Zellkulturen auf die Reduktion bei den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476, konnte kein Einfluss nachgewiesen werden. Die zu dem BVDV errechneten 95%-Konfidenzintervalle, basieren auf einer kleinen Stichprobengröße und resultieren daher in einem vergleichsweise weitem Konfidenzintervall und sind daher auch als weniger gebräuchlich einzustufen (Tab. 9 und A3, siehe Anhang).

Die Literaturrecherche zu dem BVDV zeigte leider keine vergleichbaren Ergebnisse, die sich für einen weiteren Vergleich heranziehen ließen.

4.2.4 Diskussion der Ergebnisse zu dem Murinen Parvovirus

4.2.4.1 Deskriptive Statistik

Die Reduktion des Murinen Parvovirus fiel nach den Richtlinien DVV/RKI durchschnittlich größer aus als nach Methode DIN EN 14476. Nach 30 min war nach Methode DIN EN 14476 ein deutlich sichtbarer Rückgang der durchschnittlichen Reduktion zu erkennen. Zum einen fiel die Anzahl der Messwiederholungen zu den Zeitintervallen 5 min und 15 min sehr gering aus. Hier konnten die wenigen Ergebnisse daher schnell zu einer vergleichsweise hohen durchschnittlichen Reduktion führen. Zum anderen wurde die Reduktion bei den meisten Messungen erstmalig nach 30 min gemessen. Dies und die auffallend niedrigen Reduktionsstufen nach 30 min und 60 min legen nahe, dass das Murine Parvovirus nach Methode DIN EN 14476 wesentlich mehr Zeit benötigten, um reduziert zu werden. (Abb. 13 und 14)

Bei den vorliegenden Ergebnissen zu den Prüflaboren (3.3.2) war die dürftige und ungleichmäßige Verteilung der Datenlagen zu berücksichtigen. So lagen bei den Prüflaboren nach Methode DVV/RKI fast doppelt so viele Versuche vor wie nach Methode DIN EN 14476. Aus den Abb. 15a – d ging hervor, dass bei den Vergleichen über die Zeitintervalle hinweg, häufig nur einzelne Messwerte miteinander verglichen werden konnten, oder wie bei Prüflabor 5 teilweise keine einzigen Messwerte vorlagen. Dies erschwerte eindeutige Aussagen über die Tendenzen der Prüflabore.

Bei der Gegenüberstellung der Anzahl Messungen von Zellkultur 2 bei beiden Methoden war die Anzahl der Messwiederholungen vergleichbar häufig. Hier fällt auf, dass die Anzahl der Messwiederholungen zu Zellkultur 2 nach Methode DIN EN 14476 zu ungleichen Teilen auf die Zeitintervalle 30 min und 60 min verteilt waren. Dennoch kam man zu dem Entschluss, dass die durchschnittliche Reduktion sowohl allgemein als auch über alle Zeitintervalle hinweg nach Methode DIN EN 14476 niedriger ausfiel als nach Methode DVV/RKI (Abb. 16 – 18d).

4.2.4.2 Analytische Statistik

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die Reduktion des Murinen Parvovirus in den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 fiel auf, dass Prüflabor 5, 12 und 14 allesamt einen sehr niedrigen P-Wert erreichten. Dies erklärte, dass diese

Variablen zu einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit einen Einfluss auf die Reduktion ausübten. Darüber hinaus lag ein sehr hohes adjustiertes $\overline{R^2}$ von 0.878 vor. Mit diesem Wert ließ sich zeigen, dass mittels des gemischten linearen Regressionsmodells sich 87.8% der Reduktionen mit den unabhängigen Variablen erklären lassen. Daher galt der Einfluss dieser Prüflabore nicht als geringfügig einzustufen. Dennoch erstreckten sich die errechneten Konfidenzintervalle über eine sehr große Spanne, so dass diese für eine Vorhersage der Ergebnisse unter diesen Rahmenbedingungen nicht geeignet waren. Bei Prüflabor 5 mussten die unteren Werte des Konfidenzintervalls bei 5 min und 15 min sinngemäß auf 0 hochgestuft werden. Auch hier konnte die große Spanne der Konfidenzintervalle wieder aufgrund der dürftigen Datenlage zu den betroffenen Prüflaboren erklärt werden (A5, siehe Anhang). Bei der unter 3.3.4 Berechnung der Konfidenzintervalle des Murinen Parvovirus, war erkenntlich, dass die Konfidenzintervalle nach Methode DVV/RKI aufgrund ihrer vergleichbar höheren Datenlage im Vergleich zu Methode DIN EN 14476 enger beieinander lagen. Somit konnten sie ausgesprochen gut als Referenzbereich für zukünftige Messungen herangezogen werden. Im Gegensatz dazu lagen bei den Suspensionsverfahren nach Methode DIN EN 14476 nach 5 und 15 min eine geringe Datenmenge vor, wodurch der 95%ige Konfidenzbereich etwas größer ausfiel. Um für diese Zeitintervalle präzisere neue Konfidenzintervalle definieren zu können, hätte eine höhere Anzahl an Messungen vorliegen müssen. Allerdings sind bei DIN EN 14476 nach 30 und 60 min die Stichprobengrößen etwas höher, wobei die Konfidenzintervalle hier trotzdem recht weit auseinander liegen (Tab. 10 und 11).

Nims R.W. et al 2013 stellten in ihren Versuchen dar, dass die Reduktion für unbehüllte Viren, insbesondere für das Polyomavirus und das Murine Parvovirus, niedrige Werte erzielten. Sie stellten unter Beweis, dass gerade diese Viren eine hohe Resistenz gegen verschiedene Arten der Inaktivierung aufweisen. Dies bewahrheitet sich auch bei unseren 95% Konfidenzintervallen nach DIN EN 14476, wo deren untere Grenze nach 5 min und 15 min negativ ausfiel und sinngemäß auf 0 angehoben werden musste. Auch nach 30 min war die untere Grenze nur knapp größer 0.

Bezugnehmend auf meine Arbeit wird aus Anhang 6 deutlich, dass weder das Prüflabor noch die Zellkultur einen Einfluss auf die Reduktion des Murinen Parvovirus nach Testmethode DVV/RKI haben (siehe Anhang).

4.2.5 Diskussion der Ergebnisse zu dem Adenovirus

4.2.5.1 Deskriptive Statistik

Anhand der deskriptiven Statistik ließ sich folgern, dass in den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 bei dem Adenovirus sowohl nach Methode DIN EN 14476 als auch nach Methode DVV/RKI zu den jeweiligen Zeitintervallen vergleichbare Reduktionswerte erzielt werden konnten. Dennoch war die Anzahl der Wiederholungen nicht sonderlich groß, um dieses generell bestätigen zu können. (Abb. 19 und 20)

Aussagekräftige Rückschlüsse zu den Prüflaboren sowie den Zellkulturen konnten aufgrund mangelnder Datenlage nicht getroffen werden.

4.2.5.2 Analytische Statistik

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die Reduktion des Adenovirus in den Suspensionsversuchen sowohl nach DIN EN 14476 als auch nach DVV/RKI konnten keine signifikanten Einflussgrößen nachgewiesen werden (A7 und A8, siehe Anhang).

Bei der unter 3.4.4 durchgeführten Berechnung der Konfidenzintervalle wurde erkenntlich, dass die Konfidenzintervalle nach Methode DVV/RKI trotz der hohen Datenlage recht weit auseinander lagen. Besonders auffällig waren die Konfidenzintervalle zu den Reduktionsstufen nach 5 min, 30 min und 60 min. Diesmal war zu vermuten, dass dem kein mathematisches Problem zu Grunde lag, denn die Rohdaten aus der Datenbank zeigten, dass zu diesen Zeitintervallen die Messergebnisse tatsächlich sehr weit auseinander lagen. Nur bei der Reduktion nach 15 min fiel das 95% Konfidenzintervall kleiner aus. Auch hier lagen in der Datenbank vorliegenden Werte tatsächlich näher beieinander (Tab. 18).

Brandstädt A. et al 2004 zeigten, dass bei den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI das Adenovirus mit 0,7% Formaldehyd nach 5 min ein Reduktionsfaktor von 1,1, nach 15 min von 2,8 und nach 60 min von 3,2 log Stufen erreichte. Daher stuften sie Reduktion von Adenoviren durch 0,7% Formaldehyd als geringfügig ein. Hanisch M. et al 2015 hingegen kamen zu dem Ergebnis, dass mit 2% Formaldehyd bei 4°C / 25°C und 25°C / 37°C (bei

diesen Versuchen wurden nach der Hälfte der Einwirkzeit die Temperatur von 4°C auf 25°C bzw. von 25°C auf 37°C erhöht) nach 30 min und nach 60 min kein zytopathologischer Effekt (fortan CPE) mehr nachzuweisen war. Als zytopathologischen Effekt bezeichnet man den Effekt den die Virusvermehrung auf die Zellen haben. Daraus lässt sich schließen, dass Formaldehyd eine gute inaktivierende Wirkung auf Adenoviren besitzt, auch wenn die von Hannisch M. et al 2015 verwendete Formaldehydkonzentration etwas höher lag.

Bei den Suspensionsverfahren nach Methode DIN EN 14476 war bei der Reduktion nach 30 min ein ähnliches Phänomen zu erkennen. Bei dem Reduktionswert nach 5 min musste die untere Grenze des Konfidenzintervalls sinngemäß auf 0 angehoben werden. Dennoch lagen hier die übrigen 95% Konfidenzintervalle nah beieinander und konnten daher gut als Referenzbereich herangezogen werden (Tab. 19).

4.2.6 Diskussion der Ergebnisse zu dem Murinen Norovirus

4.2.6.1 Deskriptive Statistik

Das Murine Norovirus aus den Suspensionsversuchen Phase Stufe 1 nach Methode DVV/RKI erzielten durchschnittlich höhere Reduktionsstufen und zeigten darüber hinaus auch größere Interquartilsabstände. Die größeren Interquartilsabstände konnten aufgrund der niedrigeren Anzahl an Messergebnissen erklärt werden, da vereinzelte Ausreißer einen größeren Einfluss auf das Ergebnis haben. Ebenso auffällig war, dass die durchschnittliche Reduktion nach 30 min stagnierte. Dies konnte anhand der niedrigen Anzahl der Daten sowie über alle Zeiträume hinweg gleichbleibenden Ergebnisse erklärt werden (Abb. 25 und 26).

Bei den unter 3.3.2 aufgeführten Ergebnissen zu den Prüflaboren war die Anzahl der Messwiederholungen zu berücksichtigen. So ging daraus hervor, dass die Datenlage äußerst geringfügig war und sich daher größtenteils nur auf einzelne Messungen bezogen hat. Damit waren keine Aussagen zu den Prüflaboren möglich. Bei der Auswertung der Zellkulturen fiel auf, dass sich alle Messungen auf nur eine Zellkultur konzentrierten, weswegen Aussagen über eine mögliche Einflussnahme ebenfalls nicht möglich waren. Dennoch konnte resümiert werden, dass die Werte der allgemeinen Reduktion nach

Methode DIN EN 14476 deutlich niedriger ausfiel und auch näher beieinander lagen (Abb. 27a – d).

4.2.6.2 Analytische Statistik

Bei der Untersuchung einer möglichen Einflussgröße auf die Reduktion des Murinen Norovirus in den Suspensionsversuchen sowohl nach DIN EN 14476 als auch nach DVV/RKI konnten keine signifikanten Einflussgrößen nachgewiesen werden (A9 und A10, siehe Anhang).

Bei der Erhebung der 95% Konfidenzintervalle zu dem Murinen Norovirus wurde deutlich, dass die Datenlage nach Methode DVV/RKI sehr geringfügig war und daraus breite Konfidenzintervalle resultierten.

Hanisch M. et al 2015 zeigten, dass nach DVV/RKI mit 2% Formaldehyd bei konstant 25°C bzw. 25°C / 37°C (Erhöhung der Temperatur von 25°C auf 37°C nach der Hälfte der Einwirkzeit) bereits nach 30 min kein CPE mehr festgestellt werden konnte. Somit eignete sich das Formaldehyd gut, um murine Noroviren zu inaktivieren, auch wenn die von Hanisch M et al 2015 verwendete Konzentration höher lag.

Bei den Konfidenzintervallen des Murinen Norovirus nach Methode DIN EN 14476 fiel die Datenlage etwas größer aus. Dennoch war zu erkennen, dass nach 5 min und 15 min, die Konfidenzintervalle breiter wurden und nach 30 min und 60 min, dort wo die Stichprobengröße erhöht war, enger beieinander lagen. Dennoch eigneten sich die 95% Konfidenzintervalle nach DIN EN 14476 ausgesprochen gut, um für zukünftige Versuche als Referenzbereich herangezogen zu werden. Anhand dieser Werte konnten die für Methode DIN EN 14476 vorgeschlagenen Referenzbereiche des Murinen Norovirus für die Zeitintervalle 30 min und 60 min weiter präzisiert werden (Tab. 14 und 15).

4.2.7 Diskussion der Ergebnisse zu dem Poliovirus

4.2.7.1 Deskriptive Statistik

Die durchschnittliche Reduktion sowie die Streuung der Reduktionsstufen bei dem Poliovirus waren mit Ausnahme nach 30 min sowohl nach Methode DIN EN 14476 als nach Methode DVV/RKI gleich groß. Bei näherer Betrachtung fiel auf, dass die Suspensionsversuche des Poliovirus bei beiden Methoden zu ungleichen Teilen auf die Zeitintervalle verteilt ist (Abb. 31 und 32).

Bei der Beurteilung der RS bei den verschiedenen Prüflaboren konnte aus Abb. 33a - d erkannt werden, dass häufig nur vereinzelte Messwerte miteinander verglichen werden konnten. Dadurch wurden schlüssige Aussagen nicht möglich.

Trotz der Anwendung gleicher Zellkulturen fiel bei ihrer Auswertung sehr stark die geringe Datenlage zur Last, sodass sich weder allgemein noch unter Berücksichtigung der Zeitintervalle aussagekräftige Schlüsse aus der deskriptiven Statistik ziehen ließen (Abb. 34 – 36d).

4.2.7.2 Analytische Statistik

Bei der Untersuchung auf Einflussgrößen nach Methode DVV/RKI konnten bei Prüflabor 4 und 14 aufgrund ihres äußerst geringen P-Werts fast zu 100% (99.99% und 98.05%) eine Nichteinflussnahme durch die Prüflabore ausgeschlossen werden. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Zellkulturen zu 99.99% einen Einfluss auf die Reduktion hatten. Dieser konnte allerdings nicht näher bestimmt werden, da aufgrund der mangelnden Datenlage die Zellkulturen als numerische Variabel zusammengefasst wurde.

Bei einem adjustierten R^2 von 0.7494, konnten nahezu 75% der Reduktionen mit den unabhängigen Variablen aus Prüflabor und Zellkultur erklärt werden. Daher konnte die Behauptung aufgestellt werden, dass Prüflabor 4 und 12 in den Suspensionsversuchen bei dem Poliovirus einen Einfluss auf die Reduktion nehmen. Trotzdem waren die errechneten Konfidenzintervalle hauptsächlich theoretische betrachten, da bei Prüflabor 4 sowohl die untere als auch die obere Grenze kleiner 0 sind und bei Prüflabor 12 die

Konfidenzintervalle ebenfalls fern der tatsächlichen gemessenen Werte lagen. Eine praktische Anwendung konnte somit ausgeschlossen werden (A12, siehe Anhang).

Hingegen zeigten die Konfidenzintervalle, die unter 3.6.4 errechnet wurden, wesentlich mehr Aussagekraft. Aber auch hier fiel auf, dass bei den Suspensionsversuchen nach Methode DVV/RKI nach 5 min wenig Daten vorlagen, weshalb das Konfidenzintervall dort ebenfalls etwas größer ausfiel. Zu den anderen Zeiteinheiten nach Methode DVV/RKI lagen die Konfidenzintervalle sehr nah beieinander. Ebenso erstreckten sich die 95% Konfidenzintervalle, mit Ausnahme nach 5 min, aufgrund der niedrigen Datenlage nach Methode DIN EN 14476 über einen vergleichbar großen Bereich (Tab. 16 und 17).

Die Literaturrecherche zu dem Poliovirus zeigte leider keine vergleichbaren Ergebnisse, die sich für einen weiteren Vergleich heranziehen ließen.

4.2.7 Diskussion der Ergebnisse zu dem Polyomavirus

4.2.7.1 Deskriptive Statistik

Bei den Suspensionsversuchen zeigten die durchschnittliche Reduktion und die Interquartilsabstände sowohl nach Methode DIN EN 14476 als auch nach Methode DVV/RKI über alle Zeitintervalle hinweg nahezu gleich große Werte (Abb. 37 und 38).

Bei Betrachtung der Prüflabore waren diese sehr stark von einer ungleichmäßigen Verteilung geprägt, besonders bei Methode DVV/RKI. Dadurch waren nachhaltige Aussagen nicht möglich (Abb. 39a - d).

Hinsichtlich der Zellkulturen kam man zu dem Ergebnis, dass bei Zellkultur 7 die durchschnittliche Reduktion nach DVV/RKI kleiner als nach DIN EN 14476 ausfiel. Dies betraf mit Ausnahme von 60 min auch die einzelnen Zeitintervalle. Dabei galt auch zu berücksichtigen, dass zu Zellkultur 2 nach DIN EN 14476 weniger Messwiederholungen vorlagen (Abb. 42a -d).

4.2.7.2 Analytische Statistik

Bei Erhebung der Konfidenzintervalle unter 3.7.5 war auffallend, dass aufgrund der vergleichbar hohen Datenlage die Konfidenzintervalle nach Methode DVV/RKI weniger als eine Reduktionsstufe betragen. Trotz der niedrigen Datenlage nach Methode DIN EN 14476 befanden sich, mit Ausnahme der durchschnittlichen Reduktion nach 5 min, die 95% Konfidenzintervalle recht nah beieinander und eigneten sich daher erstaunlich gut als Referenzbereich. Nur nach 15 min bei Methode DIN EN 14476 muss der untere Wert des Konfidenzintervalls sinngemäß auf 0 angehoben werden. Offenbar wurde deutlich, dass bei dem Polyomavirus die Reduktion sowohl nach Methode DVV/RKI als auch nach Methode DIN EN 14476 sehr niedrig ausfiel (Tab. 18 und 19).

Eine vergleichbare niedrige Reduktion des Polyomavirus fiel auch bei den Ergebnissen von Nims R.W. et al 2013 auf. Dort betrug die Virustiterreduktion mit 0,7% Formaldehyd bei 20°C nach 60 min 1.25 log Stufen. Bei unseren 95% Konfidenzintervallen, sowohl nach DVV/RKI als auch nach DIN EN 14476, fiel die untere Stufe nach einer Stunde vergleichbar niedrig aus. Hier bestätigt sich das Resultat von Nims R.W. et al 2013, dass insbesondere die unbehüllten Viren eine hohe Resistenz gegenüber einer Inaktivierung aufweisen.

Einflüsse durch die Wahl der Prüflabore und Zellkulturen auf die Reduktion des Polyomavirus konnte nach Methode DVV/RKI nicht festgestellt werden. Für eine Untersuchung nach Methode DIN EN 14476 war die Datenlage ungenügend (A13, siehe Anhang).

In der Literatur werden Versuche zur Reduktion des Polyomavirus mit Hilfe von 0,05%igen Glutaraldehyd- und Peressigsäure-Lösungen beschrieben. Dabei ergibt sich nach 60 Minuten Einwirkzeit mit Glutaraldehyd ein Reduktionsfaktor (RF) von 4,31 bis 4,53 log-Stufen, während nach 5 Minuten Einwirkzeit mit Peressigsäure ein RF von 0,25 bis 1,07 log-Stufen erreicht wird. Diese Werte eignen sich als Referenz, um den von uns errechneten RF mit 0,7% Formaldehyd als vergleichbar einzustufen (Akgül et al., 2021).

4.2.8 Diskussion der Ergebnisse zu dem Rotavirus

4.2.8.1 Deskriptive Statistik

Eindeutig sagen, dass die durchschnittliche Reduktion nach 5 min höher war als nach 15 min lässt sich nicht, da nur eine Messung für 5 min vorliegt. Mit Verweis auf unsere Datenbank fällt auf, dass für das Rotavirus für 30 min und 60 min exakt die gleichen Reduktionen vorliegen. Nur bei 60 min war ein recht niedriger Wert mehr eingetragen, wodurch die deskriptive Statistik nach unten korrigiert wurde.

Da alle Rotaviren in Zellkultur 12 gezüchtet wurden sind, lässt sich nur sagen, dass die durchschnittliche Reduktion des Rotavirus sich auf 2 RS belief.

In Bezug auf Prüflabor 10 lassen sich ebenfalls keine Aussagen tätigen, da hier nur eine Messung vorlag. Auffällig war nur, dass die Reduktionen in Prüflabor 7 deutlich niedriger ausfielen als in Prüflabor 12 und auch die Streuung in Prüflabor 7 wesentlich geringer ausfiel (Abb. 44).

4.2.8.2 Analytische Statistik

Aufgrund der dürftigen Datenlage konnte eine Analyse mittels gemischt linearem Regressionsmodell nicht durchgeführt werden, weswegen keine näheren Aussagen in Bezug auf mögliche Einflussgrößen getätigt werden können.

Bei der Erhebung der 95% Konfidenzintervalle konnte aufgrund der niedrigen Datenlage nach DIN EN 14476 nach 5 min kein Konfidenzintervall berechnet werden. Auch wenn nach 15 min die Datenlage sehr dürftig war, fiel das 95% Konfidenzintervall dennoch sehr präzise aus. Hingegen sind nach 30 min und 60 min die 95% Konfidenzintervalle trotz einer etwas höheren Anzahl an Messwiederholungen breiter ausgefallen (Tab. 20).

Die Literaturrecherche zu dem Rotavirus zeigte leider keine vergleichbaren Ergebnisse, die sich für einen weiteren Vergleich heranziehen ließen.

5. Zusammenfassung

Ziel war es im Rahmen der ersten Hypothese die laborinternen Referenzkontrollen mit 0,7% Formaldehyd zur Testung chemischer Desinfektionsmittel aus den Suspensionsversuchen Phase 2 Stufe 1 in Hinblick auf ihre Virustiterreduktion auf mögliche Einflussgrößen durch die Wahl des Prüflabors und der Zellkultur zu untersuchen. Im Rahmen der zweiten Hypothese sollte unter Zuhilfenahme der im Rahmen dieser Arbeit erstellten Datenbank, die von DVV/RKI 2015 und DIN 14476 2019 herausgegebenen Referenzbereiche weiter präzisiert und ggf. neudefiniert werden.

Um die erste Hypothese zu überprüfen, wurde anhand von 532 Prüfberichten und Gutachten, die in der Zeit von 2000-2022 für eine VAH-Zertifizierung eingereicht worden sind, eine Datenbank erstellt. Im Laufe der Arbeit erwies es sich als sinnvoll, insbesondere die Wahl des Prüflabors als auch die Wahl der Zellkultur auf deren mögliche Einflussnahme auf den Reduktionsfaktor näher zu analysieren. Dies geschah mittels eines linearen gemischten Regressionsmodells. Hierbei wurden die Prüflabore durch das Hinterlegen einer randomisierten Nummer anonymisiert. Zusätzlich wurden die Suspensionsversuche hinsichtlich ihrer Richtlinien DVV/RKI und DIN EN 14476 aufgeteilt. Ebenso konzentrierten sich alle Analysen ausschließlich auf die 0,7% -haltige Referenzsubstanz Formaldehyd. Die ungleichmäßige Verteilung der Datenmenge erschwerte zuverlässige Aussagen.

Es kam zu dem eingeschränkten Ergebnis, dass die Wahl des Prüflabors und der Zellkultur nur vereinzelt Einfluss auf die Reduktion des Virustiters nahm, wobei Prüflabor 12 und Prüflabor 14 besonders auffielen.

Die erste Hypothese konnte somit nur sehr eingeschränkt bestätigt werden.

Des Weiteren konnten anhand der vorliegenden Datenbank neue 95% Konfidenzintervalle berechnet und bereits Bestehende enger definiert werden.

So beschränkten sich die von DVV/RKI 2015 publizierten Referenzwerte ausschließlich auf die Virustiterreduktion des Poliovirus nach 30 Minuten und 60 Minuten. Diese gelang es uns weiter zu präzisieren und darüber hinaus neue Konfidenzintervalle für alle weiteren Viren zu den jeweiligen Zeiteinheiten festzulegen.

Für die nach DIN EN 14476 2019 publizierten Referenzwerte ließen sich die 95% Konfidenzintervalle für das Murine Parvovirus, Adenovirus, Murines Norovirus und Poliovirus nach 5 und 15 min neu festlegen und nach 30 min resp. 60 min enger definieren. Der umgekehrte Fall lag beim Vacciniavirus vor, bei dem die Referenzwerte nach 30 resp. 60 min neu festgelegt und nach 5 resp. 15 min enger definiert werden konnten. Die gänzlich fehlenden Angaben der 95% Konfidenzintervalle bei dem Bovinen Viral Diarrhoe Virus, Polyomavirus und Rotavirus konnten erfolgreich für alle Zeitintervalle ermittelt werden. Einzige Ausnahme bildete das Rotavirus, bei dem für die Reduktion nach 5 min kein neues 95% Konfidenzintervall zu identifizieren war. Selbst wenn diese Ergebnisse nicht von uneingeschränkter Gültigkeit sind, konnte dennoch der zweiten Hypothese nachgekommen werden.

6. Anhang

A1: Übersicht Zellkulturen

Gekürzte Nummer	Zellkultur
1	A-549 Zellen
2	A-9 Zellen
3	BELK Zellen
4	BGM Zellen
5	BHK-21 Zellen
6	CCL Zellen
7	CV-1 Zellen
8	FKL Zellen
9	HeLa Zellen
10	GMK, AH-1, HeLa, Vero Zellen
11	KOP-R Zellen
12	MA104 Zellen
13	RAW Zellen
14	Vero Zellen
15	MDBK Zellen
16	ACC Zellen
17	Sonstige (HELFI, DF-1, KE-R,U373, CFRK,BAH21, MDCK)

A2: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit
Vacciniavirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-value	
Virus:	Vaccinia Ankara	5	(Intercept)	1.3800117	1.1064227	163	1.247274	0.2141	
	Vaccinia Elstree	222	Zellkultur	0.0565606	0.0931373	51	0.607282	0.5464	
			VirusVaccinia Elstree	-1.1212272	1.4626617	51	-0.766566	0.4469	
Methode:	DVV/RKI		Prüflabor3	0.1396414	0.7481881	51	0.186639	0.8527	
			Prüflabor4	0.6425076	1.0144141	51	0.633378	0.5293	
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Prüflabor6	0.9678258	1.0092317	51	0.958973	0.3421	
			Prüflabor9	1.3038535	1.540973	51	0.846124	0.4014	
Prüflabor:	2	8	Prüflabor10	0.0768434	0.5579646	51	0.137721	0.891	
	3	17	Prüflabor12	1.5766624	0.8769443	51	1.797905	0.0781	
	4	4	Prüflabor14	2.8324924	1.0144141	51	2.792245	0.0074	x
	6	12	Zeit15	0.6633317	0.0896721	163	7.397307	0	
	9	1	Zeit30	1.2635101	0.0896401	163	14.095362	0	
	10	176	Zeit60	2.3505961	0.0896271	163	26.226387	0	
	12	5							
	14	4							
			Residual standard error: 0.801 on 214 degrees of freedom						
			Multiple R-squared: Adjusted R-squared: 0.6081						
Zellkultur:	5	5	F-statistic: 30.22 on 12 and 214 DF, p-value: < 2.2e-16						
	6	9							
	10	167				Erwartungsw	STD	untere Grenz	obere Grenz e
	14	38	Vaccinia Elstree	Labor 14	5 Minuten	3.1478375	3.766358	-4.0582216	10.3538966
	17	8			15 Minuten	3.8111692	3.7663079	-3.5706436	11.192982
					30 Minuten	4.4113476	3.7662759	-2.9704025	11.7930977
Zeit in min	5	55			60 Minuten	5.4984336	3.7662629	-1.883291	12.8801582
	15	58	Virus Ankara	Labor 14	5 Minuten	3.0132347	2.0765043	-1.0566307	7.08310007
	30	57			15 Minuten	2.4311575	2.6598852	-2.7821111	7.6444261
	60	57			30 Minuten	5.5325748	2.3036142	1.01758311	10.0475665
					60 Minuten	6.6196608	2.3036012	2.10469459	11.134627

A3: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 mit
BVDV bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-value	
Virus:	Bovine Virus Diarrhea	16	(Intercept)	3.815625	0.8234981	9	4.633435	0.0012	
			Zellkultur15	1.21625	0.5534607	1	2.197536	0.2719	
Methode:	DIN EN 14476		Prüflabor	-0.43375	0.1342339	1	-3.231299	0.1911	
			Zeit15	1.1275	0.3075943	9	3.665543	0.0052	
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Zeit30	1.365	0.3075943	9	4.437664	0.0016	
			Zeit60	1.47	0.3075943	9	4.779023	0.001	
Prüflabor:	3	4							
	4	4	Residual standard error: 0.4972 on 10 degrees of freedom						
	7	8	Multiple R-squared: 0.9093, Adjusted R-squared: 0.864						
			F-statistic: 20.06 on 5 and 10 DF, p-value: 6.392e-05						
Zellkultur:	11	12							
	15	4							
Zeit in min	5	4							
	15	4							
	30	4							
	60	4							

A4: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit BVDV bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-value	
Virus:	Bovine Virus Diarrhea	183	(Intercept)	1.673665	0.5843328	128	2.864233	0.0049	
			Zellkultur11	-0.0793583	0.442359	48	-0.179398	0.8584	
Methode:	DVV/RKI		Zellkultur15	2.1137425	0.7649641	48	2.763192	0.0081	x
			Prüflabor	-0.0471272	0.0334574	48	-1.408574	0.1654	
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Zeit15	0.4325821	0.0803576	128	5.383216	0	
			Zeit30	0.6756433	0.0803576	128	8.407962	0	
Prüflabor:		2	Zeit60	0.7961795	0.0895028	128	8.895583	0	
		3							
		4							
		6							
		7							
		10							
		12							
					Erwartungswert	Std. Error	untere Grenze	obere Grenze	
			Zellkultur 15	Minute 5	3.7402803	1.3827543	1.030137182	6.45042342	
Zellkultur:		6		Minute 15	4.1728624	1.4631119	1.3052216	7.0405032	
		11		Minute 30	4.4159236	1.4631119	1.5482828	7.2835644	
		15		Minute 60	4.5364598	1.4722571	1.650894774	7.42202483	
Zeit:		5							
		15							
		30							
		60							

A5: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 mit murine Parvovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-value	
Virus:	Murines Parvovirus	36	(Intercept)	0.767529	0.4602492	16	1.667637	0.1148	
			Zellkultur	-0.546751	0.1129132	9	-4.842221	0.0009	x
Methode:	DIN EN 14476		Prüflabor4	0.105306	0.3122478	9	0.337251	0.7437	
			Prüflabor5	1.530665	0.3465806	9	4.416475	0.0017	x
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Prüflabor7	0.064396	0.4153016	9	0.155059	0.8802	
			Prüflabor12	3.929306	0.4396726	16	8.93689	0	x
Prüflabor:		2	Prüflabor14	4.43822	0.5789207	16	7.666369	0	x
		4							
		5	Zeit15	0.422971	0.3210079	16	1.317635	0.2062	
		7	Zeit30	0.690046	0.2659128	16	2.595009	0.0195	
		12	Zeit60	1.103287	0.2659128	16	4.149056	0.0008	
		14	Zeit120	1.788588	0.3358187	16	5.326054	0.0001	
Zellkultur:		2							
		6							
Zeit in min		5							
		15							
		30							
		60							
		120							
					Erwartungsw	STD	untere Grenz	obere Grenze	
			Labor 5	Minute 5	1.751443	0.919743	-0.0512165	3.55410249	
				Minute 15	2.174414	1.2407509	-0.2574081	4.60623613	
				Minute 30	2.441489	1.1856558	0.11765106	4.76532694	
				Minute 60	2.85473	1.1856558	0.53089206	5.17856794	
				Minute 120	3.540031	1.2555617	1.07918029	6.00088171	
			Labor 12	Minute 5	4.150084	1.012835	2.16496791	6.13520009	
				Minute 15	4.573055	1.3338429	1.95877627	7.18733373	
				Minute 30	4.84013	1.2787478	2.33383546	8.0788378	
				Minute 60	5.253371	1.2787478	2.74707646	7.75966554	
				Minute 120	5.938672	1.3486537	3.29536469	8.58197931	
			Labor 14	Minute 5	4.658998	1.1520831	2.40096121	6.91703479	
				Minute 15	5.081969	1.473091	2.19476956	7.96916844	
				Minute 30	5.349044	1.4179959	2.56982876	8.12825924	
				Minute 60	5.762285	1.4179959	2.98306976	8.54150024	
				Minute 120	6.447586	1.4879018	3.53135799	9.36381401	

A6: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit murine Parvovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl			Value	Std.Error	DF	t-value	p-value	
Virus:	Murines Parvovirus	33		(Intercept)	1.1183282	0.2336242	20	4.786868	0.0001	
				Zellkultur3	0.4583394	0.3782396	5	1.21177	0.2797	
Methode:	DVV/RKI			Zellkultur11	0.4280426	0.4165706	5	1.027539	0.3513	
				Prüflabor10	-0.1372093	0.5860828	5	-0.234112	0.8242	
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%			Prüflabor12	-0.3972093	0.2975736	5	-1.334827	0.2395	
				Zeit15	0.4433338	0.1716416	20	2.582904	0.0178	x
Prüflabor:	5	15		Zeit30	0.7464385	0.1895132	20	3.938715	0.0008	x
	10	4		Zeit60	1.1935814	0.1895132	20	6.298144	0	x
	12	14								
				Residual standard error: 0.4421 on 25 degrees of freedom						
Zellkultur:	2	22		Multiple R-squared: 0.6168, Adjusted R-squared: 0.5094						
	3	3		F-statistic: 5.747 on 7 and 25 DF, p-value: 0.0004795						
	11	8								
Zeit in min	5	10								
	15	9								
	30	7								
	60	7								

A7: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 mit murine Adenovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl			Value	Std.Error	DF	t-value	p-value	
Virus:	Adenovirus	50		(Intercept)	1.23286	0.6610119	27	1.86511	0.0731	
				Zellkultur	0.4623564	0.2557697	14	1.807706	0.0922	
Methode:	DIN EN 14476			Prüflabor7	-0.4990844	0.6226068	14	-0.801604	0.4362	
				Prüflabor10	-0.0856511	1.1000563	14	-0.077861	0.939	
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%			Prüflabor12	-3.1352749	1.9250185	27	-1.628699	0.115	
				Prüflabor14	-2.8764742	1.6841908	27	-1.707927	0.0991	
Prüflabor:	2	9		Zeit15	1.7345777	0.5883693	27	2.94811	0.0065	
	7	20		Zeit30	1.4884597	0.558747	27	2.663924	0.0129	
	10	2		Zeit60	1.8904347	0.5409723	27	3.494513	0.0017	
	12	13								
	14	6		Residual standard error: 1.315 on 41 degrees of freedom						
				Multiple R-squared: 0.3661, Adjusted R-squared: 0.2424						
Zellkultur:	1	31		F-statistic: 2.96 on 8 and 41 DF, p-value: 0.01041						
	6	9								
	9	10								
Zeit in min	5	9								
	15	9								
	30	14								
	60	18								

A8: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit murine Adenovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
Virus:	Adenovirus	46	(Intercept)	3.773567	2.663366	24	1.416841	0.1694
			Zellkultur17	-0.338872	1.7004266	7	-0.199287	0.8477
Methode:	DVV/RKI		Prüflabor	-0.280301	0.271553	7	-1.032214	0.3363
			Zeit15	1.395997	0.5464819	24	2.554516	0.0174
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Zeit30	1.543997	0.5464819	24	2.825339	0.0094
			Zeit60	2.086039	0.576101	24	3.62096	0.0014
Prüflabor:	4	4						
	7	2	Residual standard error: 1.235 on 31 degrees of freedom					
	8	3	Multiple R-squared: 0.3713, Adjusted R-squared: 0.2699					
	10	28	F-statistic: 3.661 on 5 and 31 DF, p-value: 0.01018					
Zellkultur:	1	33						
	6	5						
	17	4						
Zeit in min	5	9						
	15	10						
	30	10						
	60	8						

A9: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen DIN EN 14476 mit Murine Norovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	D F	t-value	p-value
Virus:	Murines Norovirus	56	(Intercept)	0.5136539	0.9025301	34	0.569127	0.573
			Prüflabor7	0.2367582	0.9750931	15	0.242806	0.8114
Methode:	DIN EN 14476		Prüflabor10	-0.4664143	1.5297626	15	-0.304893	0.7646
			Prüflabor12	1.2887858	0.9758985	15	1.320615	0.2064
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Zeit15	0.4156595	0.2253491	34	1.844514	0.0738
			Zeit30	1.0199318	0.2170827	34	4.698356	0
Prüflabor:	2	3	Zeit60	1.8327604	0.2170827	34	8.442683	0
	7	32						
	10	1	Residual standard error: 1.062 on 49 degrees of freedom					
	12	17	(1 observation deleted due to missingness)					
	14	4	Multiple R-squared: 0.3743, Adjusted R-squared: 0.2977					
			F-statistic: 4.886 on 6 and 49 DF, p-value: 0.0005528					
Zellkultur:	13	56						
Zeit in min	5	18						
	15	18						
	30	19						
	60	17						

A10: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit Murine Norovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl			Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
Virus:	Murines Norovirus	19		(Intercept)	0.3865941	0.9548204	9	0.4048867	0.695
Methode:	DVV/RKI			Prüflabor4	1.2438256	1.3226504	2	0.9404039	0.4463
				Prüflabor7	1.0453507	1.4068638	2	0.7430362	0.5349
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%			Prüflabor10	1.9011952	1.628982	2	1.1671063	0.3635
				Prüflabor12	2.4289765	1.1179455	2	2.1727146	0.1619
Prüflabor:	2	6		Zeit15	1.0788926	0.726362	9	1.4853373	0.1716
	4	4		Zeit30	0.2572176	0.7073354	9	0.3636431	0.7245
	7	2		Zeit60	1.4322107	0.7421548	9	1.9298006	0.0857
	10	1							
	12	6		Residual standard error: 1.139 on 11 degrees of freedom					
				Multiple R-squared: 0.6795, Adjusted R-squared: 0.4756					
Zellkultur:	13	19		F-statistic: 3.332 on 7 and 11 DF, p-value: 0.0368					
Zeit in min	5	3							
	15	5							
	30	6							
	60	5							

A11: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DIN EN 14476 mit Poliovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl			Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
Virus:	Poliovirus	24		(Intercept)	0.339583	0.9380435	12	0.362012	0.7236
				Zellkultur	0.017827	0.1747549	2	0.102014	0.9281
Methode:	DIN EN 14476			Prüflabor7	-0.079018	0.4916838	2	-0.160709	0.8871
				Prüflabor10	0.067857	0.5586518	2	0.121466	0.9144
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%			Prüflabor12	0.844345	0.8855338	2	0.953487	0.441
				Prüflabor13	4.33872	1.0140451	2	4.278627	0.0505
Prüflabor:	2	1		Prüflabor14	3.41872	1.0140451	2	3.371369	0.0778
	7	12		Zeit15	0.79	0.3151221	12	2.506965	0.0276
	10	2		Zeit30	1.453393	0.2977624	12	4.881049	0.0004
	12	5		Zeit60	1.709107	0.2977624	12	5.739835	0.0001
	13	2							
	14	2		Residual standard error: 0.4456 on 14 degrees of freedom					
				Multiple R-squared: 0.9635, Adjusted R-squared: 0.94					
Zellkultur:	4	15		F-statistic: 41.02 on 9 and 14 DF, p-value: 1.576e-08					
	6	1							
	9	8							
Zeit in min	5	4							
	15	4							
	30	7							
	60	9							

A12: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit Poliovirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl		Value	Std.Error	DF	t-value	p-value		
Virus:	Poliovirus		(Intercept)	-3.141508	0.7488209	38	-4.195272	0.0002		
		57	Zellkultur	1.069588	0.1416673	8	7.550002	0.0001 x		
Methode:	DVV/RKI		Prüflabor4	-5.78957	0.8487984	8	-6.820902	0.0001 x		
			Prüflabor6	1.058372	0.4751208	8	2.227585	0.0565		
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%		Prüflabor7	-0.766555	0.5053948	8	-1.516745	0.1678		
			Prüflabor10	-0.288953	0.3481745	8	-0.82991	0.4307		
Prüflabor:	2	4	Prüflabor12	-2.03957	0.6014642	8	-3.391008	0.0095 x		
	4	4	Zeit15	0.376972	0.3582037	38	1.052397	0.2993		
	6	4	Zeit30	0.674077	0.3535889	38	1.906387	0.0642		
	7	3	Zeit60	1.428077	0.3535889	38	4.038807	0.0003		
	10	32	Zeit120	2.743488	0.4102698	38	6.687034	0		
	12	10								
			Residual standard error: 0.6561 on 46 degrees of freedom							
Zellkultur:	4	43	Multiple R-squared: 0.7942, Adjusted R-squared: 0.7494							
	6	6	F-statistic: 17.75 on 10 and 46 DF, p-value: 1.185e-12							
	9	8								
					Erwartungswert	Std. Error	untere Grenze	obere Grenze		
Zeit in min	5	5	Labor 4	5 Minuten	-7.86149	1.7392866	-11.27042216	-4.4525578		
	15	14		15 Minuten	-7.484518	2.0974903	-11.59551509	-3.3735209		
	30	15		30 Minuten	-7.187413	2.0928755	-11.28936526	-3.0854607		
	60	15		60 Minuten	-6.433413	2.0928755	-10.53536526	-2.3314607		
	120	8		120 Minuten	-5.118002	2.1495564	-9.331046562	-0.9049574		
			Labor 12	5 Minuten	-4.11149	1.4919524	-7.035657026	-1.187323		
				15 Minuten	-3.734518	1.8501561	-7.36074995	-0.1082861		
				30 Minuten	-3.437413	1.8455413	-7.054600126	0.17977413		
				60 Minuten	-2.683413	1.8455413	-6.300600126	0.93377413		
				120 Minuten	-1.368002	1.9022222	-5.096281423	2.36027742		

A13: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen nach DVV/RKI mit Polyomavirus bei 0,7% Formaldehyd

		Anzahl			Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
Virus:	Polyomavirus	55		(Intercept)	0.0692267	0.7830658	36	0.088405	0.93
				Zellkultur	0.0637631	0.0819428	9	0.778141	0.4565
Methode:	DVV/RKI			Prüflabor6	0.3225	0.7286217	9	0.442616	0.6685
				Prüflabor7	0.7025096	0.6338114	9	1.108389	0.2964
Referenzsubstanz:	Formaldehyd 0.7%			Prüflabor8	0.30832	0.7575569	9	0.406993	0.6935
				Prüflabor10	-0.2735489	0.5469017	9	-0.500179	0.629
Prüflabor:	4	4		Prüflabor12	0.1186586	0.6287908	9	0.188709	0.8545
	6	4		Zeit15	0.325504	0.1689045	36	1.927148	0.0619
	7	7		Zeit30	0.7484452	0.1679697	36	4.455834	0.0001
	8	2		Zeit60	1.6037786	0.1679697	36	9.548022	0
	10	30							
	12	8		Residual standard error: 0.5579 on 45 degrees of freedom					
				Multiple R-s Adjusted R-squared: 0.5879					
Zellkultur:	6	4		F-statistic: 9.56 on 9 and 45 DF, p-value: 5.774e-08					
	7	47							
	14	4							
Zeit in min	5	10							
	15	15							
	30	15							
	60	15							

A14: Gegenüberstellung der neu berechneten 95% Konfidenzintervalle (grau hinterlegt) und den orientierenden Angaben aus den Richtlinien DVV/RKI 2015 (weiß hinterlegt) zu der laborinternen Referenzkontrolle mit 0,7% Formaldehyde nach DVV/RKI unter Berücksichtigung der Virusart und der Zeitintervalle.

Methode	DVV/RKI			
Zeit in min	5	15	30	60
Vacciniavirus	0.78 – 1.21	1.51 – 2.08	2.06 – 2.55	3.22 – 3.62
Vacciniavirus	-	-	-	-
Bovine Viral Diarrhoe Virus	1.05 – 1.32	1.45 – 1.76	1.61 – 2.1	1.76 – 2.44
Bovine Viral Diarrhoe Virus	-	-	-	-
Murine Parvovirus	0.75 – 1.49	1.12 – 1.88	1.53 – 2.08	2.06 – 2.44
Murine Parvovirus	-	-	-	-
Adenovirus	1.60 – 3.27	2.23 – 3.25	1.65 – >4	2.48 – >4
Adenovirus	-	-	-	-
Murines Norovirus	-0.51 – >4	1.20 – 3.94	0.26 – 3.09	2.56 – >4
Murine Norovirus	-	-	-	-
Poliovirus	0.04 – 3.73	0.90 – 2.26	1.41 – 2.35	2.20 – 3.08
Poliovirus	-	-	0.5 – 2.5	2 – 4.5
Polyomavirus	0.19 – 1.03	0.53 – 1.18	0.96 – 1.60	1.77 – 2.50
Polyomavirus	-	-	-	-

A15: Gegenüberstellung der neu berechneten 95% Konfidenzintervalle (grau hinterlegt) und den orientierenden Angaben aus den Richtlinien DIN EN 14476 2019 (weiß hinterlegt) zu der laborinternen Referenzkontrolle mit 0,7% Formaldehyde nach DVV/RKI unter Berücksichtigung der Virusart und der Zeitintervalle.

Methoden	DIN EN 14476			
Zeit in min	5	15	30	60
Vacciniavirus	2.11 – 2.94	2.80 – 3.46	3.08 – 3.72	3.11 – 3.79
Vacciniavirus	0.7 – 3.5	2 - 4	-	-
Bovine Viral Diarrhoe Virus	0.96 – 2.73	1.84 – >4	1.65 – 4.75	1.72 – >4
Bovine Viral Diarrhoe Virus	-	-	-	-
Murine Parvovirus	-0.31 – 2.36	- 0.22 – 2.78	0.69 – 2.07	0.98 – 2.34
Murine Parvovirus	-	-	0 – 2	0.5 – 2.5
Adenovirus	-0.7 – 1.48	2.36 – 3.68	2.25 – >4	3.15 – >4
Adenovirus	-	-	3 – 5	3.5 – 5.5
Murines Norovirus	0.35 – 1.98	0.93 – 2.22	1.47 – 2.60	2.69 – 2.89
Murines Norovirus	-	-	1 – 3	2 - 4
Poliovirus	0.25 – 0.92	0.73 – 2.02	1.39 – >4	2.27 – >4
Poliovirus	-	-	0.5 – 2.5	2 – 4.5
Polyomavirus	0.32 – 0.90	-0.07 – 2.19	0.85 – 2.28	1.06 – 2.89
Polyomavirus	-	-	-	-
Rotavirus	-	1.17 – 1.82	1.65 – 3.25	1.67 – 3.09
Rotavirus	-	-	-	-

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zeit Vacciniavirus DVV/RKI	23
Abb. 2: Zeit Vacciniavirus DIN EN 14476	23
Abb. 3a: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	25
Abb. 3b: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	25
Abb. 3c: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	26
Abb. 3d: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 min	26
Abb. 4: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RKI	29
Abb. 5: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	29
Abb. 6a: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	30
Abb. 6b: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	31
Abb. 6c: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	31
Abb. 6d: Vacciniavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	32
Abb. 7: Zeit Bovine Viral Diarrhoe Virus DVV/RKI	35
Abb. 8: Zeit Bovine Viral Diarrhoe Virus DIN EN 14476	36
Abb. 9a: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	37
Abb. 9b: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	38
Abb. 9c: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	38
Abb. 9d: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 Minute	39
Abb. 10: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RK	40
Abb. 11: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach nach DIN EN 14476	41
Abb. 12a: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	42
Abb. 12b: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	42
Abb. 12c: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	43
Abb. 12d: Bovine Viral Diarrhoe Virus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	43
Abb. 13: Zeit Murines Parvovirus DVV/RKI	46
Abb. 14: Zeit Murines Parvovirus DIN EN 14476	46
Abb. 15a: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	47
Abb. 15b: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	48
Abb. 15c: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	48

Abb. 15d: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 min	49
Abb. 16: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RKI	50
Abb. 17: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	51
Abb. 18a: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	52
Abb. 18b: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	52
Abb. 18c: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	53
Abb. 18d: Murines Parvovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	53
Abb. 19: Zeit Adenovirus DVV/RKI	56
Abb. 20: Zeit Adenovirus DIN EN 14476	57
Abb. 21a: Adenovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	58
Abb. 21b: Adenovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	59
Abb. 21c: Adenovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	59
Abb. 21d: Adenovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 min	60
Abb. 22: Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RKI	61
Abb. 23: Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	62
Abb. 24a: Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	63
Abb. 24b: Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	63
Abb. 24c: Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	64
Abb. 24d: Adenovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	64
Abb. 25: Zeit Murines Norovirus DVV/RKI	67
Abb. 26: Zeit Murines Norovirus DIN EN 14476	68
Abb. 27a: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	69
Abb. 27b: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	70
Abb. 27c: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	70
Abb. 27d: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 min	71
Abb. 28: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RKI	72
Abb. 29: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	73
Abb. 30a: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	74
Abb. 30b: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	74
Abb. 30c: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	75

Abb. 30d: Murines Norovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	75
Abb. 31: Zeit Poliovirus DVV/RKI	78
Abb. 32: Zeit Poliovirus DIN EN 14476	78
Abb. 33a: Poliovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	80
Abb. 33b: Poliovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	80
Abb. 33c: Poliovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	81
Abb. 33d: Poliovirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 min	81
Abb. 34: Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RKI	83
Abb. 35: Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	83
Abb. 36a: Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	84
Abb. 36b: Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	85
Abb. 36c: Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	85
Abb. 36d: Poliovirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	86
Abb. 37: Zeit Polyomavirus DVV/RKI	89
Abb. 38: Zeit Polyomavirus DIN EN 14476	90
Abb. 39a: Polyomavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 5 min	91
Abb. 39b: Polyomavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 15 min	92
Abb. 39c: Polyomavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 30 min	92
Abb. 39d: Polyomavirus in Abhängigkeit der Prüflabore nach 60 min	93
Abb. 40: Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DVV/RKI	94
Abb. 41: Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	95
Abb. 42a: Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 5 min	96
Abb. 42b: Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 15 min	96
Abb. 42c: Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 30 min	97
Abb. 42d: Polyomavirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach 60 min	97
Abb. 43: Zeit Rotavirus DIN EN 14476	100
Abb. 44: Roatvirus in Abhängigkeit der Zellkulturen nach DIN EN 14476	101

8. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht Prüflabore	14
Tab. 2: Ergebnisse aus RStudio zu den Suspensionsversuchen DIN EN 14476 mit Vacciniavirus bei 0,7% Formaldehyd	17
Tab. 3: Verteilung der Prüfmethode bei den Suspensionsversuchen und praxisnahentest auf nationaler und europäischer Ebene	19
Tab. 4: Verteilung der Referenzsubstanzen mit ihrer zugehörigen Konzentration	20
Tab. 5: Verteilung der für die Suspensionsversuche und Praxisnahentests verwendete Viren	21
Tab. 6: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Vacciniavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	33
Tab. 7: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Vacciniavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	33
Tab. 8: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Bovinen Virusdiarrhoe-Virus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	44
Tab. 9: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Bovinen Virusdiarrhoe-Virus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	44
Tab. 10: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Murinen Parvovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	54
Tab. 11: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Murinen Parvovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	55
Tab. 12: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Adenovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	66
Tab. 13: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Adenovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	66
Tab. 14: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Murinen Norovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	76
Tab. 15: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Murinen Norovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	77

Tab. 16: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Poliovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	87
Tab. 17: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Poliovirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	88
Tab. 18: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Polyomavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	98
Tab. 19: Berechnung der 95%-Konfidenzintervalle des Polyomavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DIN EN 14476	99
Tab. 20: Berechnung der 95% Konfidenzintervalle des Rotavirus für die Suspensionsversuche Phase 2 Stufe 1 nach DVV/RKI	102

9. Literaturverzeichnis

Albrecht S., Böttcher S., Hamouda O., Mielke M., Rexroth U., Seifried J., Stern D., Willrich N., Zacher B.; Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health; Epid Bull, Robert Koch-Institut; 2020; 36; 1-22

Akgül B., Eggers M., Gebel J., Hufbauer M., Steinmann J., Wieland U.; Inactivation of Polyomavirus SV40 as Surrogate for Human Papillomaviruses by Chemical Disinfectants; Viruses; 2021; 1-10

J., Brandt F., Eggers M., Fickenscher H., Gebel J., Hübner N., Müller J.A., Rabenau H.F., Rapp I., Reiche S., Schwebke I., Steinmann E., Steinmann J., Suchomel M., Zwicker P.; Suitable Disinfectants with Proven Efficacy for Genetically Modified Viruses and Viral Vectors; Viruses; 2023; 1-13

Blümel J., Eggers M., Fickenscher H., Geisel B., Glebe D., Hengel H., Marschang R., Rabenau H.F., Reiche S., Schwebke I., Steinmann E., Steinmann J.; Einsatz geeigneter Desinfektionsmitteln bei gentechnisch veränderten Viren und viralen Vektoren
Stellungnahme der Kommission für Virusdesinfektion der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) e.V. und der Gesellschaft für Virologie (GfV)e.V.; Epid Bull; 2020:36; 3-14

Blümel J., Eggers M., Glebe D., Rabenau H.F., Rapp I., Sauerbrei A., Schwebke I., Steinmann E., Steinmann J., Willkommen H., Wutzler P.; Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) e.V. und des Robert Koch-Instituts (RKI) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmittel auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin; Bundesgesundheitsblatt, Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015; 58; 493 - 504

Blümel J., Eggers M., Glebe D., Rabenau H.F., Rapp I., Sauerbrei A., Schwebke I., Steinmann E., Steinmann J., von Rheinbaben F., Willkommen H., Wutzler P.; Mitteilung der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e. V. (DVV) und des Robert Koch-Instituts (RKI) zur Veröffentlichung der aktualisierten Fassung der Leitlinie zur Prüfung von chemischen Desinfektions- mitteln auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin (Suspensionstest) – Fassung vom 1. Dezember 2014; Bundesgesundheitsblatt, Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2014; 58; 491 – 503

Blümel J., Eggers M., Glebe D., Rabenau H. F., Rapp I., Schwebke I., Sauerbrei A., Steinmann E., Steinmann J., Willkommen H., Wutzler P.; Guideline for testing chemical disinfectants regarding their virucidal activity within the field of human medicine : as of December 1st, Prepared by the German association for the control of virus diseases (DVV) and the Robert Koch Institut (RKI); Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz; 2020; 63; 645-655

Brandstädt A., Heim A., Reimer K., Sauerbrei A., Sehr K., Wutzler P.; Sensitivity of human adenoviruses to different groups of chemical biocides; J Hosp Infect; Elsevir; 2004; 57; 59-66

Bust U., Glück B., Sauerbrei A., Schacke M., Rabenau H.F., Wutzler P.; Does limited virucidal activity of biocides include duck hepatitis B virucidal action?; BMC infect Dis; 2012; 12:276; 1-7

DIN EN 14476, Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika – Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1); Deutsche Fassung EN 14476:2013+A2:2019; 2019; Beuth; 1 - 47

Eggers M.; Neuer Wirksamkeitsbereich begrenzt viruzid plus – was ist das?; Hyg Med; 2016; 41 – 12; 319 – 322

Eggers M., Enders G.; Harmonisierung der Anforderung an die viruzide Wirksamkeit von chemischen Flächendesinfektionsverfahren im praxisnahen Test; Hyg-Med; 2023; Volume 48; 69-72

Eggers, M., Fotheringham, V., Gebel, J., Meyer, B., Morace, G., Roedger, H. J., Roques, C., Schwebke, I., Steinhauer, K., Suchomel, M., Visa, P.; The European tiered approach for virucidal efficacy testing – rationale for rapidly selecting disinfectants against emerging and re-emerging viral diseases; Euro Surveill. 2021; 1-7

Eggers M., Gebel J., Geisel B., Glebe D., Rabenau H.F., Rapp I., Schwebke I., Steinmann J.; Prüfung und Deklaration der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegen Viren zur Anwendung im human-medizinischen Bereich; Bundesgesundheitsblatt, Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2017; 60; 353 – 363

Eggers M., Hübner N.-O., Schwebke I., Suchomel M.; Händedesinfektion unter den Bedingungen der SARS-CoV-2-Pandemie; Epid Bull; 2020 ; 19; 13-20

Exner M., Gebel J.; Desinfektionsmitteltestung gemäß den VAH-Methoden und den Anforderungen für die VAH-Listung oder Testung nach europäischen Normen – was ist der Unterschied?; Hyg-Med; 2022; 190-193

Hanisch M., Laue M., Möller L., Nitsche A., Schünadel L., Schwebke I.; Evaluation of Virus Inactivation by Formaldehyde to Enhance Biosafety and of Diagnostic Electron Microscopy; MDPI; 2015; Viruses 2015, 7; 666 – 679

Hübner N.O., Eggers M., Gebel J., Geisel B., Rabenau H.F., Rapp I., Schwebke I., Steinmann J.; : Welche Bedeutung und Konsequenzen hat der neue Wirkbereich "begrenzt viruzid PLUS"?; Epid Bull, Robert Koch-Institut; 2017; 18/19; 171-17

Nims R.W., Plavsic M.; Polyomavirus inactivation – A review; Biologicals; Elsevir; 2013; Biologicals 41,2; 63 – 70

Nitsch-Osuch A., Tarka P.; Evaluating the Virucidal Activity of Disinfectants According to European Union Standards; Viruses; 2021;13,534 ; 1-9

Rabenau H.F., Schwebke I.; Aktueller Stand zur Viruzidieprüfung – ein Überblick; Hyg Med; Robert Koch-Institut; 2012; 37-7/8; 291 – 295

Rabenau H.F., Schwebke I.; Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) e.V.2 und des Robert Koch-Instituts (RKI) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin Fassung vom 1. August 2008; Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz; Springer Medizin Verlag; 2008; 51; 937 – 945

Roesch K.M; Establishment of a test scenario for surface disinfectants with mechanical action against enveloped viruses in accordance with the EN 16615; 2022; 1-13

Kompetenzzentrum Hygiene und Medizinprodukte, 2017: Erweiterung der Wirkungsbereiche „begrenzt viruzid“ und „viruzid“. https://www.hygiene-medizinprodukte.de/fileadmin/user_upload/dokumente/Aktuelles/2017-04-10_Erweiterung_der_Wirkungsbereiche.pdf

Wenchel R.; 2012: Auswahl von viruzid wirksamen Desinfektionsverfahren zur Aufbereitung von Medizinprodukten. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Virusinaktivierung/Aufber_Medizinprod_FAQ_07.html;jsessionid=11DE4FB404A349B00482418A9BE776EE.internet072?nn=2947306#Start

10. Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde an der Universität Bonn unter der Betreuung von Prof. Dr. Nico Mutters durchgeführt.

Die Konzeption und Planung der wissenschaftlichen Arbeit erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit Dr. Jürgen Gebel.

Die Datenerhebung aus den Prüfberichten, Gutachten und Zertifizierungsverfahren wurde zu 100% selbstständig von mir durchgeführt.

Die Auswertung der Daten erfolgte in enger Zusammenarbeit mit der statistischen Beratungsstelle IMBIE der Universität Bonn.

Die Interpretation der Ergebnisse sowie die Erstellung und Ausformulierung des Manuskripts lagen zu 100 % in meiner Verantwortung.

Ich bin alleiniger Erstautor der Publikation „Erstellung einer Datenbank für Referenzsubstanzen zur Viruzidietestung anhand von vorliegenden Zertifizierungsverfahren, Gutachten und Prüfberichten“ und habe diese Version des Manuskripts selbstständig verfasst.

Ich übernehme die vollständige Verantwortung für den Inhalt der Dissertationsschrift.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

11. Danksagung

Besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle bei Dr. rer. nat. Jürgen Gebel für die ausgesprochene warme und herzliche Betreuung ausdrücken.