



SAFETYTECTOR™

SARS-CoV-2 Antigen-Tests: Sicherheit für weniger als 5 cent je Test

Sebastian M. Richter, Manuel Hecht & Peter Rauch

Speichel- oder Abstrichtests sind essenziell für den Erregernachweis bei Atemwegserkrankungen und sollen in Zukunft vermehrt auch für Immunitätsnachweise nach Covid-Impfungen eingesetzt werden. Die potenziell hohe Infektiosität der Abstrich- bzw. Speichelproben führt dabei häufig zu Gefahren für die AnwenderInnen und damit verbundenen regulatorischen Hürden. Safe Design durch den Virus-inaktivierenden Puffer SafetyTector™ S für Speichel- und Abstrichtests, wie SARS-CoV-2 Antigen-Schnelltests, ist jedoch einfach realisierbar. Der Schutz der AnwenderInnen ist je nach Test-Volumen und Produktionslots für 2 bis 5 ct je Schnelltest nicht teuer. Kostenersparnisse bei der Eigenproduktion des Diluent reduzieren diese Werte weiter.

Die CoViD-19-Pandemie hat der breiten Öffentlichkeit vor Augen geführt, wie wichtig eine gute Diagnostik für die Beherrschung infektiöser Krankheiten ist. Neben der früh etablierten Diagnostik mittels Nukleinsäure amplifizierender Tests (NAT), wie die nun weithin bekannte Polymerase-Kettenreaktion (PCR), haben in den letzten Monaten SARS-CoV-2-Antigentests an Bedeutung gewonnen, die auch als Point-of-Care (POC) Diagnostika eingesetzt werden können. Hier ist zu unterscheiden zwischen Tests zur professionellen Verwendung und Laientests, wie sie auch z.B. durch SchülerInnen durchgeführt werden. Letztere basieren häufig auf Abstrichen der vorderen Mund- oder Nasenschleimhäute oder auf Speichelproben für einen direkten Erregernachweis. Insbesondere Speichel ermöglicht nach neueren Erkenntnissen eine höhere Sensitivität bei Erregernachweisen als Abstriche des Nasopharynx oder durch Patienten selbst entnommene Nasenabstriche¹.

Daneben hat sich gezeigt, dass sich Speichel auch als Probenmatrix für den Nachweis SARS-CoV-2-spezifischer IgG-Antikörper in serologischen Testformaten eignet². Die von IgA-Antikörpern vermittelte sogenannte „Schleimhaut-Immunität“ ist so ebenfalls einfach zu messen. Diese hilft zu verhindern, dass immune Individuen infektiös werden. Auch für Antikörpernachweise gegen andere Erreger sind Speichelproben eine Probenmatrix, deren Ergebnisse gut mit den Ergebnissen serologischer Serumtests korrelieren³. Die einfache und für den Patienten angenehme Art der Probennahme ist dabei ein großer Vorteil Speichel-basierter Testsysteme, vor allem im Bereich der Laienanwendung.

Im Kontext der SARS-CoV-2 Pandemie tritt jedoch ein Nachteil dieser Testsysteme deutlich zu Tage: Generell sind Patientenproben stets als potenziell infektiös zu werten. Dieses Problem verstärkt sich in Zeiten einer pandemischen Verbreitung eines respiratorischen Virus, bei dem Infizierte schon prä-symptomatisch ansteckend sind und es häufig zu asymptomatischen Verläufen kommt. Die WHO empfiehlt, dass die Handhabung von Proben zum Nachweis von SARS-CoV-2 vor einer Inaktivierung in einer Biologischen Sicherheitswerkbank stattfindet⁴. Faktisch werden diese Tests jedoch in Schulen, Kindergärten, Altersheimen und an Arbeitsplätzen durchgeführt, ohne dass es adäquate Schutzvorrichtungen gibt – von Sicherheitswerkbänken ganz zu schweigen.

Das stellt ein Problem speziell für die Hersteller von In-vitro-Diagnostika dar. Die Minderung des Risikos für AnwenderInnen ist ein obligatorischer Bestandteil der Validierung eines neu entwickelten Diagnostikums. Die für die Implementierung der ISO 13485 maßgebende ISO 14971 „Anwendung des Risikomanagements für Medizinprodukte“⁵ fordert: „Falls durchführbar, sollte das Medizinprodukt so ausgelegt und hergestellt sein, dass es inhärent sicher ist“ (Safe Design). Die In-vitro-Diagnostika Verordnung⁶, die ab 26. Mai 2022 verpflichtend anzuwenden ist, fordert ebenfalls, dass „Risiken durch sichere Auslegung und Herstellung“ ausgeschlossen oder so weit wie möglich verringert werden. Nur wenn dies nach dem Stand der Technik nicht möglich ist, sind Schutzmaßnahmen oder Sicherheitsinformationen ein akzeptables Mittel der Risikominderung (s. Abb. 1).

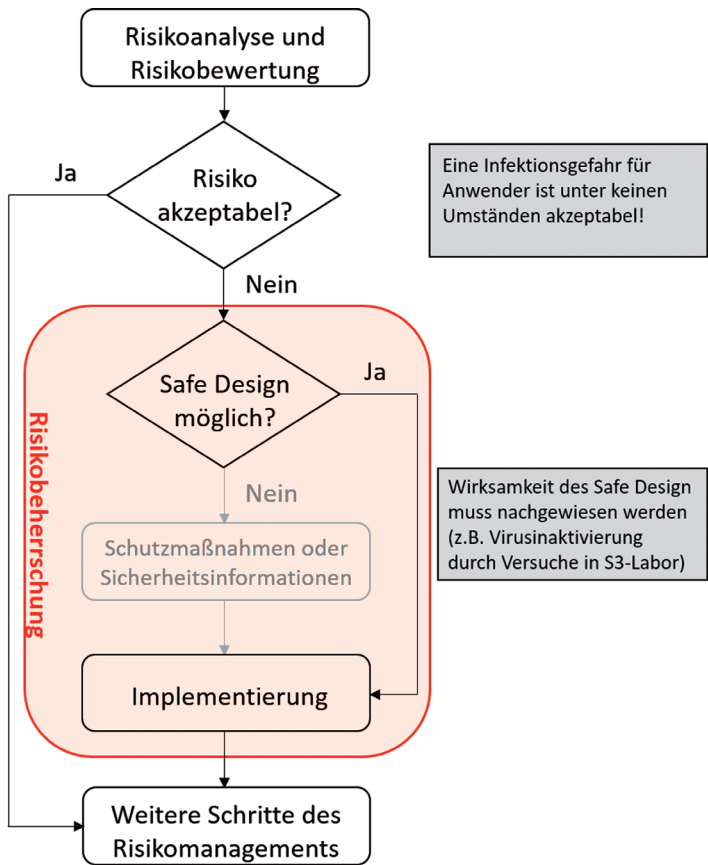


Abb. 1: Priorisierung der Optionen der Risikobeherrschung nach ISO 14971. Falls durchführbar, sind Medizinprodukte so auszulagern, dass sie inhärent sicher sind (Safe Design). Nur falls dies nicht möglich ist, sind Schutzmaßnahmen oder Sicherheitsinformationen als Maßnahmen der Risikobeherrschung akzeptabel. Für den Anwenderschutz sind virusinaktivierende Puffer demnach Schutzmaßnahmen (z.B. Handschuhe, Schutzbrillen, reißfeste Sammelbeutel) oder Sicherheitsinformationen (z.B. in der Packungsbeilage) zwingend vorzuziehen.

Die Lösung: SafetyTector™ S

Um das Problem der Virus-Inaktivierung zu lösen und sichere Verdünnungspuffer für alle Marktakteure ohne großen Investitions- und Zeitaufwand verfügbar zu machen, hat CANDOR den SafetyTector™ S entwickelt. SafetyTector™ S ist ein gebrauchsfertiger Virus-inaktivierender Verdünnungs- und Extraktionspuffer für Speichelproben sowie Nasen- und Rachenabstriche. Dabei handelt es sich bei SafetyTector™ S nicht um einen Gefahrstoff. Die Virus-inaktivierende Wirkung wird zudem ohne den Einsatz umweltschädlicher viruzider Komponenten, wie z.B. des häufig verwendeten endokrinen Disruptors Triton X-100⁸, erreicht.

Um die Sicherheit der AnwenderInnen garantieren zu können, muss die Virus-inaktivierende Wirkung experimentell belegt werden. In Untersuchungen mit in Speichel verdünnten, infektiösen SARS-CoV-2-, Influenza-A-Virus- und Herpes-Simplex-Virus-1-Isolaten in einem S3-Labor des Universitätsklinikums Ulm durch die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Jan Münch konnte bereits nach 1-minütiger Inkubation mit SafetyTector™ S keine verbleibende Infektiosität mehr nachgewiesen werden (Abb. 2). Vergleichbare Ergebnisse konnten in Testungen mit weiteren anderen humanpathogenen Erregern - Masern-Virus, Herpes-Simplex-Virus-2, Zika-Virus - und mit den SARS-CoV-2-Varianten B.1.1.7 („Britische Variante“) und B.1.351 („Südafrikanische Variante“) erzielt werden.

SafetyTector™ S hat also eine breite anti-virale Wirkung und vermindert die Gefährdung der AnwenderInnen während der Analyse von Speichel- und Abstrichproben potenziell infektiöser Patienten.

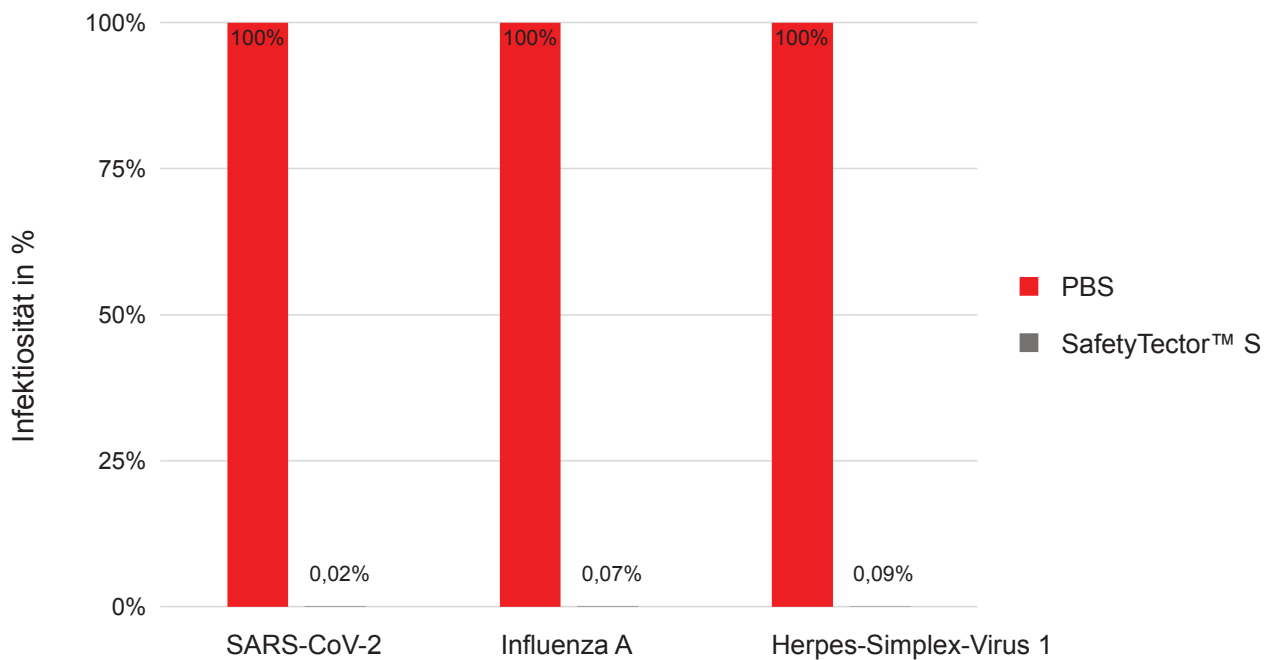


Abb.2: SafetyTector™ S hat eine breite antivirale Wirksamkeit. Mit SARS-CoV-2, Influenza-A-Virus oder Herpes-Simplex-Virus 1 (HSV-1) versetzte Speichelproben wurden 1:4 mit PBS oder CANDORs SafetyTector™ S gemischt und für 1 Minute bei Raumtemperatur inkubiert ($n = 3$). Nach Inkubation wurden die Proben titriert und auf Vero E6 (SARS-CoV-2 und HSV-1) oder MDCK (Influenza A Virus) Zellen gegeben. Nach vier bis sieben Tagen wurde die Infektiosität nach der Reed-Muench-Methode quantifiziert. Bei allen drei untersuchten Viren war nach Inkubation mit SafetyTector™ S mit dieser Methode keine Infektiosität mehr nachweisbar.

Analytische Leistung

Neben der Sicherheit für die AnwenderInnen ist eine gute analytische Leistung bei Entwicklung und Validierung eines Diagnostikums essenziell. Die Auswahl des richtigen Diluents ist entscheidend für die Performance. Eine Herausforderung bei der Analyse potenziell infektiöser Proben ist es, eine Virus-inaktivierende Wirkung zu generieren, welche aber die Antigen-Antikörper-Bindung nicht stört und dadurch zu falschen Ergebnissen führt. Diese Balance ist CANDOR bei der Entwicklung des SafetyTector™ S gelungen. Die analytische Leistung wurde untersucht, indem bei kommerziell erhältlichen, BfArM-gelisteten Antigen-Schnelltests der jeweils mitgelieferte Verdünnungs- und Extraktionspuffer durch SafetyTector™ S ersetzt wurde. Bei diesen Testungen verschiedener Schnelltests blieb die Nachweisgrenze bei Einsatz von SafetyTector™ S unverändert niedrig und es traten keine falsch-positiven Ergebnisse auf (Abb. 3A-D). Obwohl die Schnelltests nicht mit SafetyTector™ S entwickelt wurden, ist dieser den ursprünglichen Diluents somit ebenbürtig. Bei direkter Einbindung des SafetyTector™ S in die Entwicklung und Optimierung eines Immunoassays auf Speichel oder Abstrichbasis lässt sich somit das Problem der Anwendersicherheit lösen, ohne dass dabei Kompromisse bei der analytischen Leistung gemacht werden müssen.

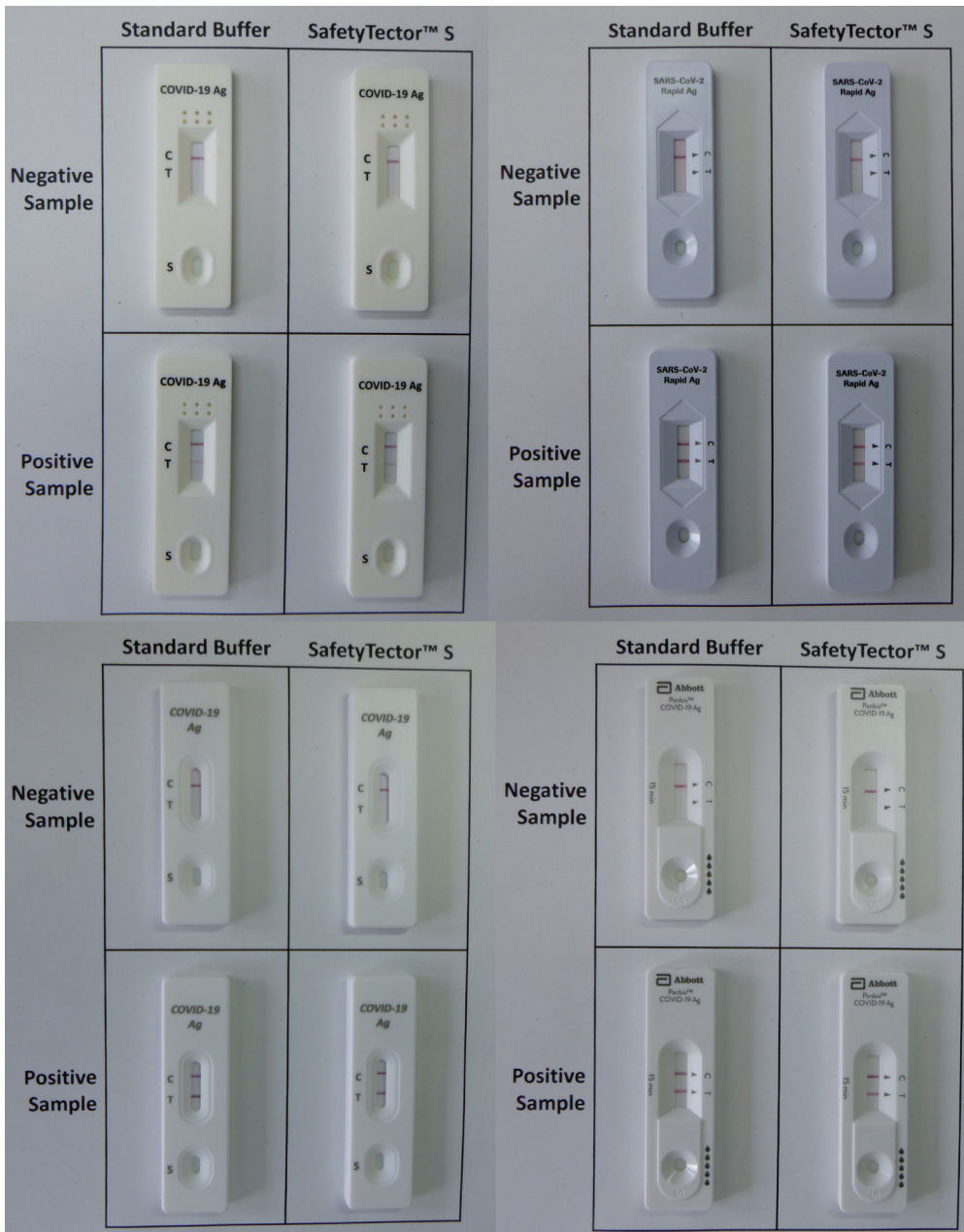


Abb. 3: SafetyTector™ S ist kompatibel mit Antigen-Schnelltests verschiedener Hersteller. Speichelproben von gesunden Spendern wurden entweder unbehandelt (Negative Sample) oder nach Zugabe von SARS-CoV-2 Antigenen (Positive Sample) gemäß Packungsbeilage entweder mit dem mitgelieferten Verdünnungspuffer (Standard Buffer) oder SafetyTector™ S durchgeführt. Hersteller: A) DRG Instruments; B) Roche; C) BTNX; D) Abbott

Zudem ist SafetyTector™ S aufgrund seiner Zusammensetzung in der Lage, die häufig problematische Textur und Viskosität vieler Speichelproben - und somit deren Fließeigenschaften - zu verbessern, was einen Vorteil bei Fluidik-basierten Immunoassays, wie Lateral Flow Assays, darstellen kann.

Die Kosten sind dabei vernachlässigbar: Wenn im kommerziellen Maßstab produziert wird, liegen sie auf den Einzeltest gerechnet in der Regel zwischen 2 und 5 ct je Test (bei üblichen Volumina des Diluents je Test). Zudem werden Kosten für die sonst einzusetzenden Diluents eingespart, so dass die realen Mehrkosten noch geringer ausfallen.

SafetyTector™ S - der neue Stand der Technik

Der von CANDOR entwickelte SafetyTector™ S ist ein Verdünnungs- und Extraktionspuffer für Immunoassays der in Speichel- oder Abstrichproben enthaltene Viren inaktivieren und somit die Anwendersicherheit von In-vitro-Diagnostika deutlich verbessern kann. Die analytische Leistung des Diagnostikums bleibt dabei unverändert hoch. SafetyTector™ S stellt somit einen neuen Stand der Technik für Immunoassays dar. Die Verwendung des SafetyTector™ S spart dadurch Ressourcen und Zeit in Entwicklung, im Risikomanagement und in der Validierung diagnostischer Immunoassays. Die Forderung nach Safe Design wird einfach umgesetzt. Tests auf dieser Basis können auch von Laien in Gemeinschaftseinrichtungen wie Schulen gefahrlos durchgeführt werden. Auch die korrekte Entsorgung gebrauchter Test-Bestecke stellt keine Herausforderung für AnwenderInnen mehr dar.

CANDORs DIN EN ISO 13485-zertifizierte Produktionsstätte in Wangen im Allgäu garantiert dabei die gleichbleibend hohe Qualität des SafetyTector™ S und ermöglicht Batchgrößen bis zu 1000 L.

Testmuster sind für Entwickler und Hersteller von In-vitro-Diagnostika auf Anfrage erhältlich.

Referenzen:

- 1: Teo, AKJ et al. (2021) Saliva is more sensitive than nasopharyngeal or nasal swabs for diagnosis of asymptomatic and mild COVID-19 infection. Nature Scientific Reports
- 2: MacMullan, MA et al. (2020) ELISA detection of SARS-CoV-2 antibodies in saliva. Nature Scientific Reports
- 3: Hettegger, P et al. (2019) High similarity of IgG antibody profiles in blood and saliva opens opportunities for saliva based serology. PLoS One
- 4: World Health Organization (2020) Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19)
- 5: EN ISO 14971:2019, Anhang A, Abschnitt A.2.7.1 Analyse der Optionen zur Risikobeherrschung
- 6: Verordnung (EU) 2017/746, Anhang I, Kapitel I, Punkt 4 (In-vitro-Diagnostika-Verordnung)
- 7: Public Health England (2020) COVID-19: PHE laboratory assessments of inactivation methods
- 8: List of substances included in Annex XIV of REACH („Authorisation List“), Eintrag 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol, ethoxylated (<https://www.echa.europa.eu/web/guest/authorisation-list/-/dislist/details/obo236e1807df8od>)

CANDOR Bioscience GmbH
Simoniusstrasse 39
88239 Wangen, Germany
www.candor-bioscience.com
support@candor-bioscience.de

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages