

4.9 Tenazität von Viren – Stabilität und Erhalt der Infektiosität von Viren

Christine Uhlenhaut

Zusammenfassung

Die Stabilität der Infektiosität von Viren hängt von vielen Faktoren ab, von den jeweiligen viralen Eigenschaften und von der Summe der Umweltbedingungen, die vorherrschen. Die morphologischen und chemischen Differenzen zwischen den Vertretern einzelner Virusgruppen können außerordentlich groß sein und bestimmen die Tenazität entscheidend. Schon innerhalb einer Virusfamilie können sich Viren in ihren biochemischen Eigenschaften deutlich unterscheiden. Eine pauschale Vorhersage über die Stabilität und Infektiosität von Viruspartikeln im Allgemeinen lässt sich nicht treffen.

Der Begriff Tenazität wird für eine Vielzahl von Stoffen und auch für Mikroben verwendet. Tenazität beschreibt die Stabilität oder Überlebensfähigkeit eines Stoffes oder Agens in der natürlichen Umwelt.

Viren haben im Unterschied zu Bakterien keinen eigenen Stoffwechsel, sie vermehren sich auch nicht ohne Wirt oder lebende Zellen, im Grunde „leben“ Viren also nicht. Folglich können sie auch nicht abgetötet, sondern nur „inaktiviert“ werden, indem ihre physiko-chemischen Eigenschaften verändert bzw. zerstört werden. Viren werden im Unterschied zu Bakterien und Pilzen nicht generell durch Salzen, Pökeln, Trocknen und Gefrieren inaktiviert, ihre Infektiosität kann so eher stabilisiert werden. Da Viren sich nicht außerhalb lebender Zellen vermehren, kann die Anzahl infektiöser Viruspartikel in der unbelebten Umwelt nur abnehmen.

Viruspartikel können nach verschiedenen Charakteristiken in Gruppen eingeteilt und benannt werden. Die einfachste Unterscheidung ist die in *behüllte* und *unbehüllte* Viren. Grundsätzlich ist der Aufbau von Viruspartikeln durch relativ einfache Bauprinzipien bestimmt. Viren besitzen einen Typ von Nukleinsäure (das virale Erbgut), man unterscheidet somit DNA- und RNA-Viren, die sich aufgrund der Genomstruktur in Untergruppen unterteilen

lassen (einzelsträngig oder doppelsträngig, positive oder negative Strangorientierung, segmentiertes oder nicht segmentiertes Genom). Einfach gebaute Viren besitzen nur eine Proteinhülle, die das Erbgut umschließt, das so genannte *Kapsid*. Partikel, die nur aus ihrer Erbinformation und einem Kapsid bestehen, nennt man *Virionen*. Bei Viren, die weitere Proteinhüllen, so genannte *envelopes* besitzen, wird die innere Proteinhülle, die das Erbgut umschließt, als *Nukleokapsid* bezeichnet. Es gibt auch Viren, die kein eigentliches Kapsid besitzen, die virale Erbsubstanz ist direkt von verschiedenen Schichten Lipoprotein umgeben. Der so geformte Komplex wird als *Nukleoid* (Lipoprotein-Nukleinsäure-Komplex) bezeichnet. Viren mit diesem Aufbau nennt man *komplexe Viren*, ein Beispiel hierfür sind Pockenviren.

Die Hülle, die viele Viren außer dem Kapsid noch besitzen, leitet sich vom zellulären Membransystem – also von der infizierten Wirtszelle – ab. Diese Virus-hülle kann von der Kernmembran, dem Zytoplasma oder dem endoplasmatischen Retikulum stammen. Sie kann wesentliche Vorteile für das Virus haben, sie kann eine wichtige Rolle bei der Fusion mit Zellen spielen, sie kann die Freisetzung von produzierten Viruspartikeln aus der Zelle ohne die Zerstörung der Zelle (der Virusfabrik) erlauben oder durch kleine Veränderungen der Hülle eine größere Variabilität des Virus (z. B. ein anderes Wirtsspektrum) ermöglichen. Ein entscheidender Nachteil der Lipidhülle für das Virus ist, dass es hier einen Angriffspunkt bietet. Diese Hülle kann beispielsweise durch Detergenzien zerstört werden. Behüllte Viren lassen sich meist schon mit Desinfektionsmitteln, die auch gegen Bakterien eingesetzt werden, inaktivieren, während unbehüllte Viren oft mit höheren Konzentrationen und/oder über längere Zeit behandelt werden müssen (Tab. 19). Hierbei handelt es sich jedoch nicht um eine grundsätzliche Regel, je nach Aufbau der Hülle können behüllte Viren sehr resistent und unbehüllte Viren sehr sensitiv gegen unterschiedliche Noxen sein. Signifikante Unterschiede können hier schon innerhalb einer Virusfamilie auftreten, so zeigt Coxsackie B3 eine höhere Tenazität als Polio Typ 1, beide zählen zu den Enteroviren.

Virusaufbau	Struktur	Relative Tenazität	Beispiele
Unbehüllte Viren	Nukleokapsid	Sehr hoch	Enteroviren Hepatitis A Parvoviren
Intermediäre Viren	Nukleokapsid und Spikes	Mittel bis hoch	Adenoviren Rotaviren
Behüllte Viren	Nukleokapsid und Hülle	Relativ hoch	Hepatitis B Hepatitis C
		Gering	Retroviren Vaccinavirus

Tab. 19: Tenazität von Viren in Abhängigkeit von der Virusstruktur

Die „klassischen“ humanpathogenen bioterrorrelevanten Viren sind behüllte Viren; wenn man allerdings über diese Erregergruppe hinausgeht, findet man tier- oder pflanzenpathogene Viren, die das Potenzial haben, große wirtschaftliche Schäden verursachen zu können und die in die Gruppe der unbehüllten Viren einzugruppiert sind (Tab. 20).

Virus	Aufbau
Filoviren (Marburg-, Ebolavirus)	Hülle
Bunyaviren (Krim-Kongo-HF-, Hantavirus)	Hülle
Poxviren (Variola-, Vaccinia-, Kuhpockenvirus)	Hülle
Arenaviren (Lassa-, Junivirus)	Hülle
Togaviren (Venezuelanische Equine Enzephalitis Viren)	unbehüllt
Picornaviren (Maul- und Klauenseuche-Virus)	unbehüllt
Tymoviren (Citrus sudden death-associated Virus)	unbehüllt

Tab. 20: Struktur von bioterrorrelevanten Viren

Je nach Umweltbedingungen werden die strukturellen und damit ihre infektiösen und biologischen Eigenschaften von Viren mehr oder weniger rasch zerstört. Die Geschwindigkeit, mit der diese Zerstörung geschieht, ist für verschiedene Viren ganz unterschiedlich und von einer Vielzahl von weiteren Faktoren, die die Integrität des physikalischen Aufbaus der Viruspartikel beeinträchtigen, abhängig, z. B. Feuchtigkeit, organische Begleitsubstanzen, pH-Wert, physikalische Eigenschaften der Oberfläche, Temperatur(-schwankungen), Lichteinstrahlung und ionisierende Strahlung. Man unterscheidet die physikalische und die chemische Schädigung der Virusstruktur, die durch chemische (Desinfektionsmittel, Alkohol, Detergenzien) oder physikalische Noxen (Temperatur, UV-Strahlung, ionisierende Strahlung) entsteht.

Physikalische Noxen

1. Temperatur

Bei niedrigen Temperaturen ($< -20\text{ }^{\circ}\text{C}$) sind Viren grundsätzlich sehr resistent (abgesehen von fortgesetzten Schwankungen über einen breiten Temperaturbereich); so werden Virusstocks, die für die Virusanzucht verwendet werden sollen, bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder in flüssigem Stickstoff ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) aufbewahrt. Bei niedrigen Temperaturen kann die Virusinaktivierung also langsamer erfolgen (Desinfektion von Kühlräumen oder im Winter). So wird beobachtet, dass Poliovirus bei $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ selbst bei 20 Prozent relativer Luftfeuchtigkeit für mindestens drei Stunden nicht signifikant inaktiviert wird. Hohe Temperatur ist dagegen eine bedeutsame physikalische Noxe. Beim Autoklavieren werden Temperaturen von $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $134\text{ }^{\circ}\text{C}$ und bei der Heißluftsterilisation von $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ angewendet. Der Grad der Empfindlichkeit gegen hohe Temperaturen ist ebenfalls virusabhängig, es kann auch innerhalb einer Virusfamilie bereits signifikante Unterschiede geben. So ist das Poliovirus temperatursensitiv, während das Hepatitis A-Virus, das ebenfalls zur Familie der Enteroviren gehört, temperaturstabil ist und seine Infektiosität bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ über Stunden bewahren kann. Neben der den einzelnen Viren inhärenten Eigenschaft, mehr oder weniger hitzestabil zu sein, können Umweltfaktoren im Umgebungsmilieu, z. B. im Blut, eine Schutzfunktion im Sinne eines Schutzmantels ausüben und eine gewisse Hitzestabilität vermitteln.

2. Trocknung, Luftfeuchtigkeit

In angetrocknetem Zustand können manche Viren lange Zeit infektiös bleiben (Enteroviren, Adenoviren, Respiratory Syncytial-Virus, Hepatitis B-Virus). Die relative Luftfeuchtigkeit ist für die Geschwindigkeit der Inaktivierung bei Antrocknung von Viren auf Oberflächen mitentscheidend – jeweils im Zusammenspiel mit den physiko-chemischen Eigenschaften des Virus. So sind unbehüllte Viren wie Polio bei hoher Luftfeuchtigkeit eher stabil, während Aerosole von behüllten Viren wie Influenza oder Masern eher bei niedrigerer Luftfeuchtigkeit stabil sind. Diese Stabilität bei niedriger Luftfeuchtigkeit kann eine Rolle bei dem vermehrten Auftreten von Grippe im Winter spielen.

Die Inaktivierung von Viren bei Trocknung hängt unter anderem vom Trocknungsgrad und der Trocknungsart ab (z. B. enthalten „luftgetrocknete“ Präparate ca. 35 Prozent Luftfeuchtigkeit im Vergleich zu gefriergetrockneten Präparaten, die ein bis drei Prozent Restfeuchtigkeit enthalten). Auch die Oberfläche, auf der das Virus trocknet, kann eine wichtige Rolle für die Stabilität des Virus spielen. So verliert das Respiratory Syncytial-Virus nach ca. einer Stunde Trocknung an Händen oder Papiertaschentüchern seine Ansteckungsfähigkeit, auf Gummihandschuhen schon in kürzerer Zeit, aber erst nach sieben Stunden bei Trocknung auf einer Tischoberfläche.

Die Inaktivierungsrate ist ebenfalls von den spezifischen Eigenschaften des jeweiligen Virus abhängig: eine 90-prozentige spontane Inaktivierung (ohne Einsatz von Desinfektionsmitteln) erfolgt bei Antrocknung an eine Oberfläche unter Normalbedingungen für Influenza nach ca. vier Stunden, für HIV nach ca. acht Stunden und für das Poliovirus nach ca. 13 Stunden. Praktisch wichtig sind diese Gegebenheiten bei der Desinfektion von kontaminierten Tisch- oder Bodenflächen, bzw. Kontaktflächen, die zur Weiterverbreitung von Erregern durch Hände, Schuhe etc. beitragen können. So kann z. B. Poliovirus bei 40 Prozent relativer Luftfeuchtigkeit mehr als 99 Prozent seiner Infektiosität in zwei Stunden verlieren. Bei einem Wert von nahezu 100 Prozent relativer Luftfeuchtigkeit aber nimmt die Konzentration über mehr als vier Stunden nicht ab. Bei dieser Luftfeuchtigkeit ist der Virusfilm auf der Fläche feucht und entsprechend resistent. Auf einer mit unbehüllten Virusarten kontaminierten Fläche kann das Aufbringen eines gegenüber solchen Viren unwirksamen Desinfektionsmittels möglicherweise sogar schaden, da durch das Aufbringen

eines Desinfektionsmittels ein Feuchtfilm gebildet wird. In diesem Fall wird die Virusbelastung also länger bestehen bleiben und ein falsches Gefühl der Sicherheit wird vermittelt. Bei der Desinfektion im Tauchbad ist zu beachten, dass eine Verteilung der Viren in der gesamten Flüssigkeit erfolgt. Damit diese abgeschwemmten Viren nicht andere Gegenstände im gleichen Tauchbad kontaminieren, ist der Einsatz eines universell einsetzbaren Viruszids notwendig. Der Verlauf der Inaktivierung hängt auch von der Eiweißbelastung im Milieu ab. Im Allgemeinen hat Eiweiß, z. B. in Serum, eine schützende Wirkung für Viren. Blutbelastung führt also häufig zu einer Hemmung der Wirkung von Desinfektionsmitteln. Entsprechende Tests müssen mit und ohne Proteinbelastung durchgeführt werden.

4.9.3 Strahlung

Angriffspunkt der Strahlung (UV-Strahlung, Tageslicht, ionisierende Strahlung) ist primär die virale Nukleinsäure, nicht die Virushülle; Proteine werden nahezu gar nicht angegriffen. Da die Nukleinsäure direkt geschädigt wird, hängt der Wirkungsgrad von der Genomgröße ab. Gammastrahlen werden häufig zur Inaktivierung von unbehüllten und behüllten Viren eingesetzt (z. B. bei Medizinprodukten). Im Vergleich zu Bakterien benötigen Entero-, Rota- oder Reoviren eine zehnfach höhere Dosis (ca. 30 Ws/cm²) für eine tausendfache Verringerung der Infektiosität. Proteine und andere Stoffe in der Probe können durch abschirmende Wirkung vor ionisierender Strahlung schützen.

4.9.4 Chemische Noxen

Chemische Noxen in der Umwelt können z. B. Salze oder Proteine sein, die in der Probe vorkommen (z. B. Bodenproben, Blutproben). Auch Alkohole und Detergenzien können zu den chemischen Noxen gezählt werden. Die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln hängt von den Hülleigenschaften des jeweiligen Virus im Zusammenspiel mit den gegebenen Umweltbedingungen ab. Ein und dieselbe Chemikalienklasse, wie z. B. Alkohole haben in Abhängigkeit von der Kettenlänge unterschiedliche Wirksamkeit gegenüber behüllten und unbehüllten Viren. Tabelle 21 zeigt die für die Inaktivierung verschiedener behüllter und unbehüllter Viren notwendigen Konzentrationen von Alkoholen unterschiedlicher Kettenlänge.

Substanz	Virus	Polio- virus *	Coxsackie B3-Virus *	Adeno- virus *	Herpes- virus **	Influenza- virus **
Methylalkohol		60 %	50 %	70 %	40 %	60 %
Ethylalkohol		70 %	70 %	80 %	30 %	40 %
Isopropylalkohol		> 90 %	> 90 %	> 90 %	30 %	30 %
n-Propanol		> 90 %	> 90 %	30 %	20 %	20 %

* unbehüllt, ** behüllt

Tab. 21: Wirksamkeit von Alkoholen für Virusinaktivierung

Wie bei Alkoholen ist auch bei anderen Desinfektionsmitteln zu beachten, dass der Wirkungsgrad nicht für alle Viren gleich ist, zum Beispiel wird Poliovirus Typ 3 durch zwei Prozent Formalin inaktiviert, für die Inaktivierung von Polio Typ 1 wird dagegen eine achtprozentige Formalinkonzentration benötigt.

Weitere Faktoren

In virusinfizierten Zellen und Organen außerhalb eines lebenden Makroorganismus oder in Leichen können Viren länger infektiös bleiben als außerhalb des Zellverbandes. Zwar wird durch enzymatische Abbauvorgänge auch hier eine langsame Inaktivierung eintreten, jedoch stellen die Zellen eine Art Schutzmantel für die Viren dar, der sie vor der Wirkung von Noxen schützt. Das gleiche gilt für andere Stoffe, wie zum Beispiel Proteine. So haben Versuche mit dem SARS-Coronavirus gezeigt, dass die Infektiosität ohne Protein nach neun Tagen um etwa 5 log Stufen (etwa hunderttausendfach) abnimmt, in Anwesenheit von Protein im selben Zeitraum jedoch nur um 1,5 log Stufen (fünzigfach). Eine andere Untersuchung hat gezeigt, dass Viren auch in Ausscheidungen sehr viel länger infektiös bleiben können. Hierzu wurden Viren in einem künstlich hergestellten Schlamm/Gülle über mehrere Wochen bei unterschiedlichen Temperaturen (von 5 bis 55 °C) aufbewahrt und die Infektiosität zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt (Tab. 22).

Virus *	Ausgangstiter	5° C	20° C	35° C	40° C	45° C	50° C	55° C	Hülle
Schweine-Influenza	10e + 5.8	9 w	2 w	> 24 h	> 24 h	-	>2:30 h	1 h	+
Porcines Parvovirus	10e + 6.0	> 40 w	> 40 w	21 w	9 w	> 19 d	5 d	8 d	-
MKS (Schwein)	10e + 4.8	> 14 w	2 w	24 h	10 h	5 h	1 h	1 h	-

w = Wochen, d = Tage

Tab. 22: Abnahme der Infektiosität. W = Wochen, d = Tage

Generalisierte Aussagen über die Tenazität oder die Stabilität der Infektiosität von Viren sind pauschal nicht möglich. Die theoretische Voraussage über das Verhalten eines Virus gegenüber in der Umwelt vorherrschenden Noxen ist schwierig, weil die jeweilige Morphologie, die physikalischen und biochemischen Eigenschaften des Virus immer im Zusammenwirken mit den gegebenen Umweltfaktoren zu sehen sind. Extrapolationen von beobachteten Werten für eine partielle Inaktivierung sind nicht zulässig. Um eine sichere Aussage zu treffen, muss die vollständige Inaktivierung bei einer definierten Menge eines Desinfektionsmittels unter festgelegten Bedingungen gezeigt werden. Verfahren, die zur sicheren Inaktivierung von Viren geeignet sind, sind Autoklavieren und Heißluftsterilisation sowie die Anwendung von geprüften Desinfektionsmitteln (siehe Desinfektionsmittelliste RKI, www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/desinfektionsmittel__node.html).

Da viele Viren lange Zeit (Hepatitis A-Virus z. B. jahrelang) infektiös bleiben können, ist es im klinischen Alltag und in der Gefahrenabwehr notwendig, die Inaktivierung durch Desinfektionsmittel oder Sterilisation zu beschleunigen.

Literaturhinweise

ADAMS, D. J., et al. (1982). „Aerosol stability of infectious and potentially infectious reovirus particles.“ *Appl. Environ. Microbiol.* 44.4, 903-08.

BIERMANN, U., HERBST, W., AND SCHLIESSER, T. (1990). „[The persistence of bovine enterovirus and pseudorabies virus in liquid cattle manure at different storage temperatures].“ *Berl Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 103.3, 88-90.

DE JONG, J. G., AND WINKLER, K. C. (1964). „Survival of measles virus in air.“ *Nature* 201:1054-5, 1054-55.

HAAS, B., et al. (1995). „Inactivation of viruses in liquid manure.“ *Rev. Sci. Tech.* 14.2, 435-45.

HURST, C. J., AND GOYKE, T. (1986). „Stability of viruses in waste water sludge eluates.“ *Can. J. Microbiol.* 32.8, 649-53.

HURST, C. J., AND GOYKE, T. (1986). „Survival of indigenous enteric viruses during storage of waste water sludge samples.“ *Can. J. Microbiol.* 32.8, 645-48.

IJAZ, M. K., et al. (1985). „Survival characteristics of airborne human coronavirus 229E.“ *J. Gen. Virol.* 66. Pt 12, 2743-48.

MIEKKA, S. I., et al. (2003). „Inactivation of viral and prion pathogens by gamma-irradiation under conditions that maintain the integrity of human albumin.“ *Vox Sang.* 84.1, 36-44.

MILLER, W. S., AND ARTENSTEIN, M. S. (1967). „Aerosol stability of three acute respiratory disease viruses.“ *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125.1, 222-27.

PIRTLE, E. C., AND BERAN, G. W. (1991). „Virus survival in the environment.“ *Rev. Sci. Tech.* 10.3, 733-48.

PRUSS, A., et al. (2002). „Effect of gamma irradiation on human cortical bone transplants contaminated with enveloped and non-enveloped viruses.“ *Biologicals.* 30.2, 125-33.

RABENAU, H. F. et al. (2005). „Stability and inactivation of SARS coronavirus.“ *Med. Microbiol.Immunol.(Berl)*. 194.1-2, 1-6.

SATTAR, S. A., et al. (1984). „Effect of relative humidity on the airborne survival of rotavirus SA11.“ *Appl.Environ.Microbiol.* 47.4, 879-81.

SCHOLTISSEK, C.(1985). „Stability of infectious influenza A viruses at low pH and at elevated temperature.“ *Vaccine* 3.3 Suppl, 215-18.

SINTON, L. W., FINLAY, R. K., AND LYNCH,P. A. (1999). „Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater.“ *Appl.Environ. Microbiol.* 65.8, 3605-13.

SPIRE, B., et al. (1985). „Inactivation of lymphadenopathy-associated virus by heat, gamma rays, and ultraviolet light.“ *Lancet* 1.8422, 188-89.

STALKNECHT, D. E., et al. (1990). „Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water.“ *Avian Dis.* 34.2, 412-18.

UHLENHAUT, C., et al. (2005). „Effects of lyophilization on the infectivity of enveloped and non-enveloped viruses in bone tissue.“ *Biomaterials.* 26.33, 6558-64.