Anlage 1

(zu Nr.4.4 NABF 2017)

Sachbericht zum Zwischennachweis

(Beantwortung in Stichworten genügt)

ZE: Forschungszentrum Borstel (FZB), Leibniz Lungenzentrum	Förderkennzeichen: 03COV06C
Vorhabenbezeichnung:	PlasmaplusCorona-FZB: Plasmabasierte Desinfektion des Respirationstraktes zur Senkung der SARS-CoV-2 Viruslast in vitro und in vivo
Laufzeit des Vorhabens:	01.04.2021 – 31.12.2024 (kostenneutrale Verlängerung bis 31.12.2024)
Berichtszeitraum:	01.04.2021 – 31.12.2024

Sachbericht zum Verwendungsnachweis

Teil I Kurzbericht

Im Rahmen des Vorhabens *PlasmaplusCorona – PPC: Plasmabasierte Desinfektion des Respirationstraktes zur Senkung der SARS-CoV-2 Viruslast in vitro und in vivo* war unsere Aufgabe am *Forschungszentrum Borstel, Leibniz Lungenzentrum*, **in vitro** die antivirale und generelle antimikrobielle Wirkung von kaltem Atmosphärendruckplasma (cold atmospheric plasma – CAP) in infizierten menschlichen Atemwegsepithelzellen im Air-Liquid-Interface-(ALI) Modell, das mit Coronaviren (SARS HCoV-NL63), Influenzaviren (H1N1), Bakterien und Pilzen infiziert wurden, zu analysieren. Das innovative ALI-Atemwegsmodell für *in vitro* Studien ahmt die humane Situation der Epithelien, die die Höhlen des Atemtraktes auskleiden, nach. Die der Atemluft-zugewandte Seite der ALI-Kulturen konnte sowohl direkt dem CAP selbst oder mit CAP behandelter Beatmungsluft oder Aerosolen ausgesetzt werden.

Wir fanden heraus, dass das vom INP zuerst konstruierte Plasmadüsen-Gerät vielversprechende Ergebnisse in mit dem Coronavirusisolat HCoV-NL63 infizierten humanen Calu-3 Lungenepithelzellen in ALI-Kultur lieferte, allerdings das durch die Plasmadüse erzeugte CAP zu Zellschäden führte. Damit ist die Plasmadüse keine ideale Plasmaquelle für die Weiterentwicklung als Medizinprodukt. Das daraufhin von den Kollegen am INP entwickelte *aerosol dielectric barrier discharge* (DBD) System, in dem die CAP-produzierten wirksamen

Moleküle über ein Aerosol auf die Epithelzellen verabreicht werden, zeigte dagegen keine Zytotoxizität der Epithelzellen. Das DBD-System hat auch den Vorteil, direkt an eine Beatmungseinheit angeschlossen und damit auch bei Beatmungspatienten genutzt zu werden. Mehr noch, das Aerosol-DBD-System sowohl mit trockener als auch mit anfeuchtbarer Luft als Trägergas für CAP zeigte ebenfalls eine gute Wirksamkeit gegen das HCoV-NL63- und auch gegen das Influenza-Virus H1N1 in infizierten humanen Calu-3 Lungenepithelzellen. Das influenza-Virus haben wir aufgrund der besseren Quantifizierbarkeit und ebenfalls hoher Relevanz als pandemischem Erreger in die Untersuchungen mit einbezogen. Die Viruslast wurde sowohl anhand des Plaque-Assays mithilfe der Kristallviolett- bzw. zusätzlich einer spezifischen Antikörperfärbung aber auch anhand einer qRT-PCR bestimmt. Sowohl trockene Luft als auch feuchte Luft als CAP Träger ergaben eine vergleichbare zeitabhängige Reduktion der Viruslast. Die Arbeiten waren die wichtige Voraussetzung für die technologische Weiterentwicklung der CAP-Quelle durch die Partner am INP für den Einsatz im Tiermodell und später in Beatmungspatienten mit polymikrobiellen Infektionen der Atemwege.

Unsere Untersuchungen haben den routinemäßigen Einsatz des Luft-Flüssigkeits-Interface (ALI)-Kultursystems zur Untersuchung kalten Atmosphärendruck-Plasmas (CAP), das vom Aerosol-DBD-System erzeugt wird, etabliert, und damit zuverlässige Ergebnisse erbracht. Diese Technologie kann dann sowohl im Tiermodell, als auch, nach einer Entwicklung hin zu einem Medizingerät, im Patienten angewandt werden. Die Wirksamkeit optimierter Plasmaquellen an einem mit viralen Atemwegserregern infizierten *Epithelzell*-Modell zu testen, ist gelungen und konnte erfolgreich abgeschlossen werden. Unsere Arbeiten - gemeinsam mit INP und LIV - haben das Potenzial der Plasmatechnologie für die Bekämpfung von Atemwegsinfektionen mit Corona- und Influenzaviren klar gezeigt. Es ist damit äußerst vielversprechend, entsprechende CAP-Systeme basierend auf der Aerosol DBD Plasmaquelle für die Patientenanwendung vor allem für dauerbeatmete Patienten weiter zu entwickeln. Dies soll in der Zukunft weiterverfolgt werden.

Publikation bisher (2 weiter sind in Vorbereitung):

1. Mrochen DM, Miebach L, Skowski H, Bansemer R, Drechsler CA, Hofmanna U, Hein M, Mamat U, Gerling T, Schaible U, von Woedtke T, Bekeschus S. 2022 Toxicity and virucidal activity of a neon- driven micro plasma jet on eukaryotic cells and a coronavirus. Free Radic Biol Med. 191:105
2. von Woedtke T, Gabriel G, Schaible UE, Bekeschus S. 2022 Oral SARS-CoV-2 reduction by local treatment: A plasma technology application? Plasma Process Polym. Dec 22:e2200196