

Córdoba, 21 de octubre de 2021

INFORME TÉCNICO 21-012**Empresa solicitante:** FDC DISEÑOS & DESARROLLOS SRL**Estudio solicitado:** Ensayo de inactivación del virus **Adeno 5 (virus desnudo)** mediante la generación de gas ozono**Realizado por:** Bioq. J. Javier Aguilar
Dra Brenda Konigheim**Equipo evaluado:** Dispositivo de ozonización FDC Advanced, modelo B-Logic. provisto por el solicitante.**Materiales usados:**

1. Lámina de Tereftalato de polietileno (PETE) 50x50mm (Colocados en cápsula de Petri de vidrio de 60mm)
2. Cartón plastificado (Tetrapak) 50x50mm (Colocados en cápsula de Petri de vidrio de 60mm)
3. Vidrio borosilicato (placas de Petri 60mm)
4. Tela tipo fiselina 50x50mm (Colocados en cápsula de Petri de vidrio de 60mm)
5. **Virus ADENO 5**
6. Línea Celular Vero C176

Metodología de trabajo:

Se dispensaron 25 gotas del stock viral (aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de placas (UFP)), distribuidas de manera concéntrica y de 5 μ l cada una, sobre las distintas superficies por duplicado. Para cada superficie se dejó un control viral sin tratamiento (dejado afuera de la cámara de ozonización).

La cámara de ozonización fue humedecida con agua pura y colocada en el interior de una cabina de seguridad biológica tipo II A2. Con las placas destapadas se activó el modo esterilización de la cámara durante tiempo = 30 y 60 minutos, con ozonización permanente a temperatura ambiente para los materiales PETE, tela, cartón y vidrio. Una vez terminado el procedimiento las gotas se retomaron en 1 ml de Medio de Cultivo y se procedió a la titulación por triplicado (n=6).

Anexo1: Titulación viral:

Las gotas retomadas en contacto con la superficie de cada una de las placas tratadas y control viral fueron diluidas en serie factor 10 con Medio de cultivo (MEM 2% SFB, 0.3 gr/L glutamina) (1:9). Cada una de las diluciones (100 μ l) fue sembrada por duplicado de manera independiente sobre policubetas de 24 pocillos conteniendo una monocapa confluyente de células VERO, se incubaron durante 1 hora y luego se agregó un medio semisólido (MEM 4% SFB, 0.3 gr/L glutamina y agarosa 0,5%). Se incubó durante 5 días a 37°C, 5% CO₂ y atmósfera húmeda. Al término de la

incubación se agregó a cada pocillo una solución conteniendo 4% de formaldehído para frenar la reacción. Se coloreó con una solución de cristal violeta al 2%. Se procedió al recuento de las UFP virales.

Reactivos:

Minimum Essential Medium (MEM) GIBCO Lote: D10032021

Suero Fetal Bovino Natocor (SFB) lote: NTC 610

L-Glutamina CALBIOCHEM lote: D00014498

Cultivos de Células: Células VERO cl76 crecidas y mantenidas según protocolos del ATCC.

1. **Resultados:** Para determinar la actividad antiviral del equipo previamente descrito se realizó un ensayo "in Vitro". Para ello, se utilizó el virus **ADENO 5**. Las distintas superficies fueron inoculadas con suspensiones virales (aproximadamente 1×10^6 UFP) y fueron sometidas al tratamiento a 30 y 60 minutos por duplicado, dejando un control viral sin tratamiento para cada caso. Posteriormente se retomó la suspensión viral (en forma de gotitas) con 1 ml de MEM y se realizó la titulación seriada (1/10.) Cada dilución fue inoculada sobre células VERO por triplicado (n=6). A los 5 días se frenó la reacción y se procedió al recuento de las ufp. Los resultados se presentan a continuación:

Muestra	30 minutos			60 minutos		Inhibición viral
	N° de UFP	Control viral (UFP)	Inhibición viral	N° de UFP	Control viral (UFP)	
Vidrio de borosilicato	13×10^5	18×10^6	92.8%	9×10^3	15×10^6	99.9%
Cartón prensado y plastificado (tetrapack)	27×10^4	15×10^6	98.2%	9×10^4	4×10^6	97.7%
Tela de fiselina (barbijo)	13×10^3	22×10^5	99.4%	6×10^3	1×10^6	99.4%
Lámina de Tereftalato de polietileno (PETE)	11×10^5	8×10^6	86.3%	3×10^2	12×10^6	99.9%

Los controles se comportaron de acuerdo a lo esperado.