

Córdoba, 15 de junio de 2021

INFORME TÉCNICO 21-007

Empresa solicitante: FDC DISEÑOS & DESARROLLOS SRL

Estudio solicitado: Ensayo de inactivación del virus Sars-CoV-2 mediante la generación de gas ozono

Realizado por: Bioq. J. Javier Aguilar
Dra Brenda Konigheim

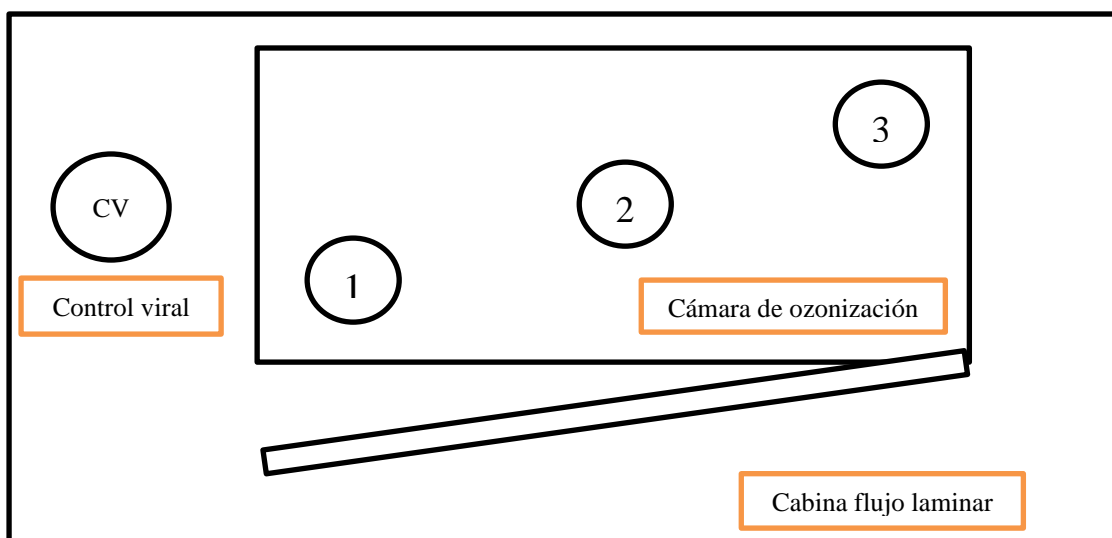
Equipo evaluado: Dispositivo de ozonización FDC Advanced, modelo B-Logic. provisto por el solicitante.

Materiales usados:


1. Placas de cultivo de 35mm marca Biofil n° catálogo TCD 010035
2. Virus SARS-CoV-2 (hCoV-19/Argentina/PAIS-G0001/2020 Base de datos: GISAID, Número de Acceso ID: EPI_ISL_499083
3. Línea Celular Vero CI76

Metodología de trabajo:

Se dispensaron 25 gotas del stock viral (8×10^5 unidades formadoras de placas (UFP)), distribuidas de manera concéntrica y de 5 ml cada una, en cuatro placas de cultivo. Tres placas fueron introducidas dentro de la cámara de ozonización y una fue dejada afuera (control viral) según el siguiente esquema:



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 60 minutos con ozonización permanente a temperatura ambiente. Una vez terminado el procedimiento las gotas se retomaron en 1 ml de Medio de Cultivo y se procedió a la titulación por duplicado.



Dra. Brenda S. Konigheim
Prof. Asistente
Investigador Asistente-CONICET
InVIV-FCM, UNC



Bioq. Javier Aguilar
MP: 5118

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 µL) 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 96hs 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.



Dra. Brenda S. Konigheim
Prof. Asistente
Investigador Asistente-CONICET
InVIV-FCM, UNC



Bioq. Javier Aguilar
MP: 5118

Resultados:

Muestra	Recuento de unidades formadoras de placas 60 minutos inactivación viral (UFP)	Inhibición viral 60 minutos
Placa 1	4×10^2	99,95%
Placa 2	$4,5 \times 10^2$	99,94%
Placa 3	0	100%
Testigo viral	8×10^5	-----

Resumen: Para determinar la actividad antiviral del equipo previamente descrito se realizó un ensayo “in Vitro”. Para ello, se utilizó el **virus SARS-CoV-2 (hCoV-19/Argentina/PAIS-G0001/2020 Base de datos: GISAID, Número de Acceso ID: EPI_ISL_499083**. Las suspensiones virales (8×10^5 UFP) fueron sometidas al tratamiento durante 60 minutos por triplicado, dejando un control viral sin tratamiento. 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. A las 96hs se frenó la reacción y se procedió al recuento de las ufp.

Bajo las condiciones de ensayo:

1. **Placa 1** mostró **99.95%** de inhibición viral a los 60 minutos de exposición.
2. **Placa 2** mostró **99.94%** de inhibición viral a los 60 minutos de exposición.
3. **Placa 1** mostró **100%** de inhibición viral a los 60 minutos de exposición.

Los controles se comportaron de acuerdo a lo esperado.



Dra. Brenda S. Konigheim
Prof. Asistente
Investigador Asistente-CONICET
InVIV-FCM, UNC



Bioq. Javier Aguilar
MP: 5118