

Córdoba, 13 de julio de 2021

INFORME TÉCNICO 21-008**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. Cartón plastificado (Tetrapak) 50x50mm (Colacados en cápsula de Petri de vidrio de 60mm)
3. Vidrio borosilicato (placas de Petri 60mm)
4. Tela tipo fiselina 50x50mm (Colacados en cápsula de Petri de vidrio de 60mm)
5. Virus SARS-CoV-2, variante gamma (P.1 Manaos) (hCoV-19/Argentina/PAIS-G0234/2021
Base de datos: GISAID, Número de Acceso ID: EPI_ISL_2037442)
6. Línea Celular Vero C176

Metodología de trabajo:

Se dispensaron 25 gotas del stock viral (aproximadamente 1×10^5 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 tela, carton y vidrio. Las placas de cultivo de poliestireno de 30mm se expusieron durante tiempo = 5, 15, 30 y 45 minutos. 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 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.




1. **Resultados:** Para determinar la actividad antiviral del equipo previamente descrito se realizó un ensayo “in Vitro”. Para ello, se utilizó el virus SARS-CoV-2 variante gamma (P.1 Manaos) (hCoV-19/Argentina/PAIS-G0234/2021 Base de datos: GISAID, Número de Acceso ID: EPI_ISL_2037442). Las distintas superficies fueron inoculadas con suspensiones virales (aproximadamente 1×10^5 UFP) y fueron sometidas al tratamiento a distintos tiempos (15-60 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 las 96hs se frenó la reacción y se procedió al recuento de las ufp. Los resultados se presentan a continuación:

Muestra	5 minutos		15 minutos		30 minutos		45 minutos		60 minutos		Control viral (UFP)
	N° de UFP	Inhibición viral	N° de UFP	Inhibición viral	N° de UFP	Inhibición viral	N° de UFP	Inhibición viral	N° de UFP	Inhibición viral	
Vidrio de borosilicato	-----	-----	-----	-----	$4,8 \times 10^3$	90,4%	-----	-----	$3,8 \times 10^2$	99,2%	$0,95 \times 10^5$
Cartón prensado y plastificado (tetrapack)	-----	-----	-----	-----	$5,4 \times 10^3$	89,2%	-----	-----	7×10^2	98,6%	1×10^5
Tela de fiselina (barbijo)	-----	-----	-----	-----	$9,4 \times 10^2$	99,1%	-----	-----	0	100%	1×10^5
Placas de cultivo de 35mm	$10,2 \times 10^4$	0%	$3,2 \times 10^4$	55,9%	$5,8 \times 10^3$	92%	$1,1 \times 10^3$	98,5%	-----	-----	$7,25 \times 10^4$

Los controles se comportaron de acuerdo a lo esperado.



Bioq. Javier Aguilar
MP: 5118



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