



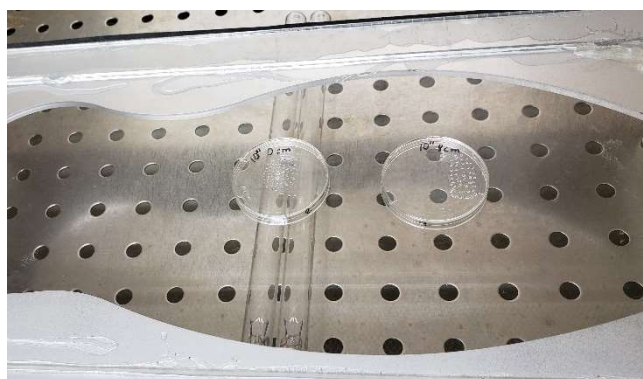
INFORME DE RESULTADOS (FUO-328-20)

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD VIRUCIDA FRENTE A CORONAVIRUS HUMANOS DE UN PROTOTIPO COMERCIAL DE APARATO DESCONTAMINANTE PARA CALZADO BASADO EN LUZ ULTRAVIOLETA TIPO C

Dispositivo en pruebas: Prototipo comercial de descontaminación con lámpara de luz ultravioleta acoplada, tipo C.

Virus y células: Se utilizó un coronavirus humano 229E recombinante que expresa la proteína verde fluorescente (HCoV-229E/GFP) propagado en la línea celular de hepatoma humano Huh-7.

Procedimiento del ensayo: Para cada condición experimental se usaron 10 μ L de una preparación del coronavirus con un título aproximado de 10^6 TCID₅₀/mL que se distribuyeron aproximadamente en alrededor de 50-60 pequeñas gotas distribuidas de forma similar sobre el interior de una placa de Petri de 4 cm de diámetro. A continuación, se invirtió la placa y se colocó con las gotas hacia abajo frente a la lámpara en las correspondientes posiciones de ensayo, tal como se muestra en la imagen a continuación:



Se ensayaron **3 tiempos de exposición** a la luz ultravioleta: 10, 20 y 30 segundos. Para cada tiempo de exposición se utilizaron **dos muestras** diferentes situadas a **0 y 8 cm de distancia** de la lámpara.

En paralelo, se colocaron 10 μ L de la preparación viral de forma idéntica sobre una placa de Petri la cual no fue expuesta a la luz ultravioleta, para ser usada como control de virus.

Tras la exposición del virus en las distintas condiciones, se voltearon las placas nuevamente y se añadieron 500 μ L de medio de cultivo DMEM suplementado con 2% de suero bovino fetal sobre las gotas del virus, mezclando mediante pipeteo para recoger el virus. Se procedió de la misma manera con el virus del control.

Las suspensiones virales así obtenidas tanto de control de virus como de los distintos tratamientos fueron valoradas mediante el método de Reed y Muench de la dilución punto final,

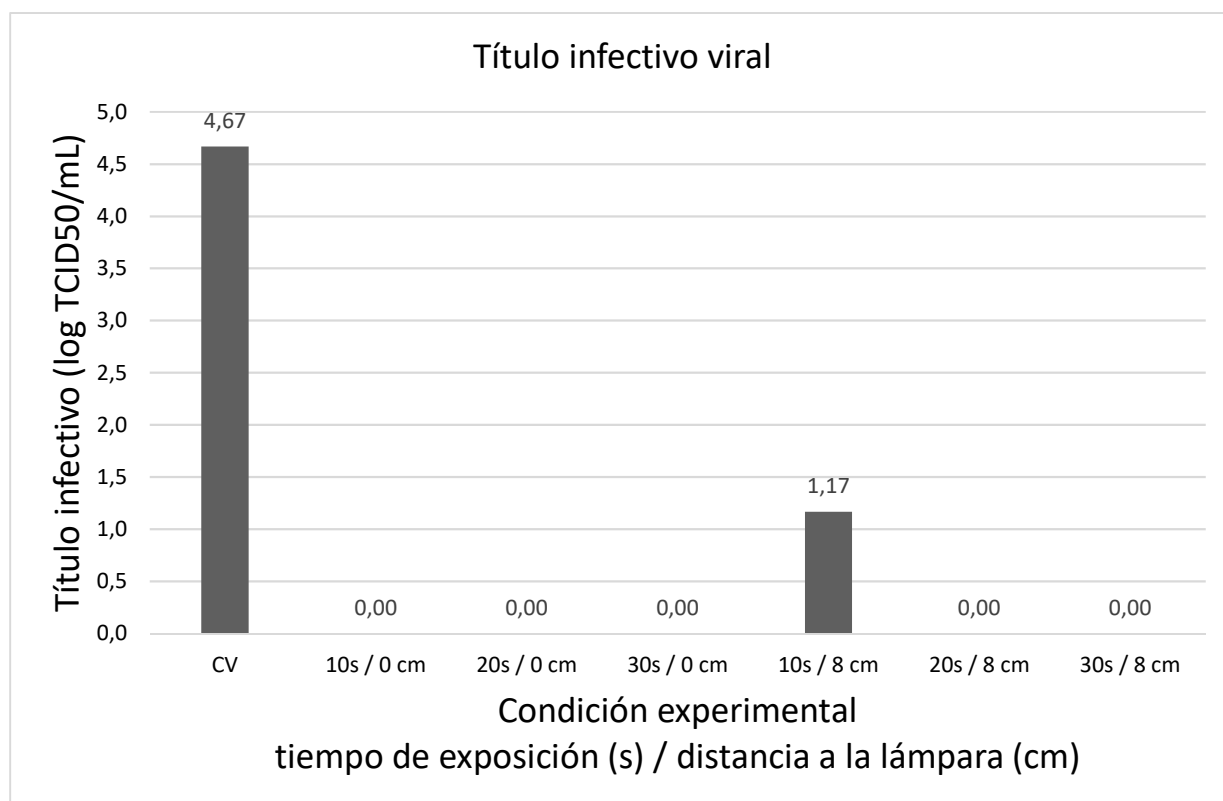


para determinar la infectividad residual (TCID₅₀/mL) obtenida tras los tratamientos respecto al control de virus no tratado. Las valoraciones se realizaron en placas de cultivo de 96 pocillos sembradas confluentemente con células Huh-7. Para la valoración del resultado de las infecciones se consideraron positivos aquellos cultivos que presentaron al menos una célula fluorescente verde, indicativo de infección por el coronavirus recombinante.

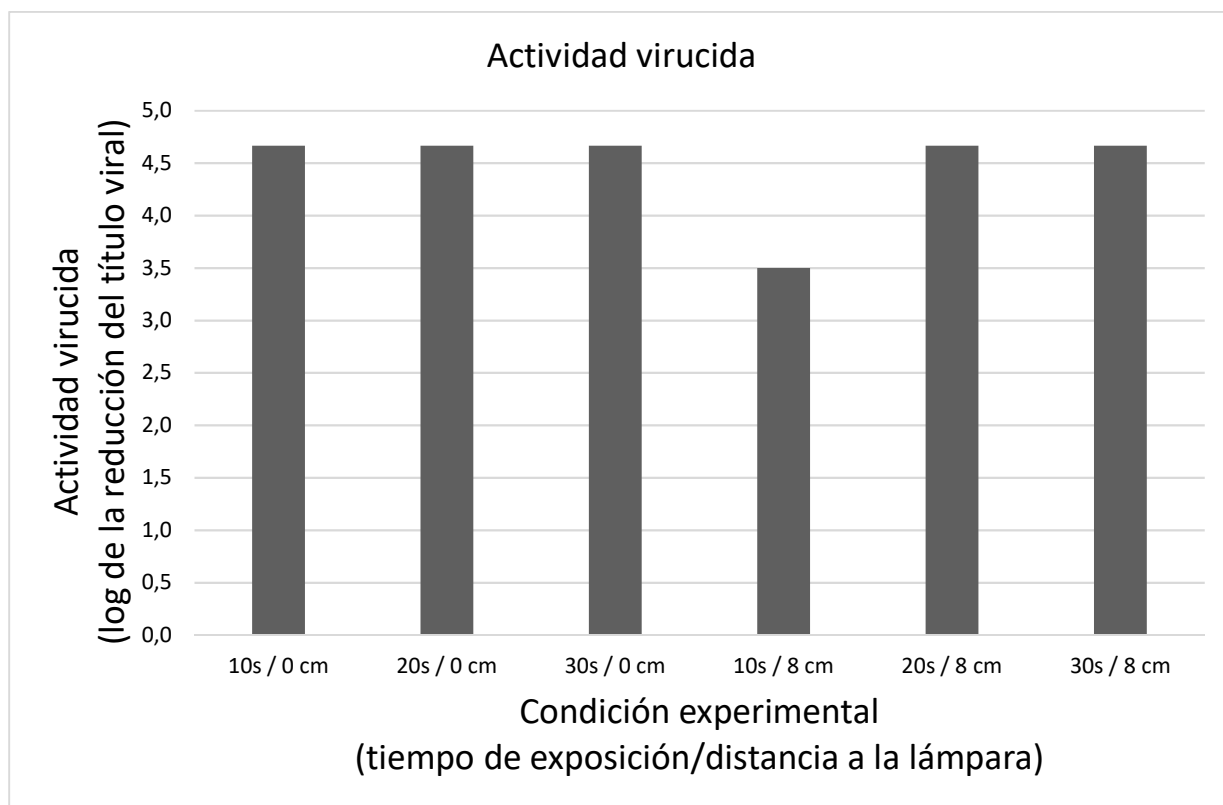
RESULTADOS

En los pocillos inoculados con el control de virus se observaron células infectadas hasta la dilución 10⁻⁴, mientras que en la mayoría de los tratamientos con luz ultravioleta no se observó fluorescencia verde indicativa de replicación viral, incluso en la menor de las diluciones (10⁻¹). Solo se observaron pocillos positivos en 4 de las 6 réplicas experimentales de la dilución 10⁻¹ para la condición más leve de tratamiento (menor tiempo de exposición y mayor distancia a la lámpara, 10s /8 cm). Aun así, como se puede ver en los gráficos de título viral y actividad virucida, incluso en este tratamiento la reducción del título viral fue de más de 3 logaritmos, indicativo de una actividad virucida del 99,9%.

A continuación, se muestran los gráficos con los valores de títulos infectivos obtenidos del control de virus no tratado (CV) y de los distintos tratamientos de tiempo y distancia (t/d). El título infectivo resultó ser nulo para la mayoría de las condiciones de exposición, excepto la mencionada anteriormente de 10s / 8cm.



La actividad virucida calculada resulta de restar al logaritmo del título infectivo del control de virus los logaritmos de los títulos virales tras las distintas exposiciones. En todos los casos ésta reducción fue siempre superior a 3, un valor considerado como 99,9% de inactivación de las partículas virales.



CONCLUSION

El dispositivo descontaminante del calzado ensayado tuvo una **actividad virucida de más de un 99,9%** en todas las condiciones probadas, esto es, desde un tiempo mínimo de exposición de 10 segundos y hasta una distancia de 8 cm entre la muestra de virus y la fuente emisora de luz UV.

en Oviedo a 25 de noviembre de 2020

Fdo. Dr. Francisco Parra Fernández

Dr. Ángel Luís Álvarez Rodríguez