

Forsøgsrapport

Dato: 16-12-20.

Opgave: Test af UV BARx1 for virksomheden Efsen UV and EB Technology

Formål:

Det testes om produktet UV BARx1 har effekt over for SARS-CoV-2.

Deltagere:

Lektor phd Thomas Emil Andersen, forskningsassistent BSc Ditte Sandfelt Tornby, bioanalytiker MSc Line Bang.

Tidspunkt for opgavens udførelse:

Opgaven blev udført i perioden d. 10-12-20 til 15-12-20.

Opgavebeskrivelse:

Der foretages enkeltmålinger af UVC bestrålingens effekt på virus overlevelse iflg. nedenstående skema for UV BARx1. Kryds angiver enkeltmålinger:

	1sek	2sek	4sek	8sek
50mm afstand		X	X	X
100mm afstand		X	X	X

Arbejde udført over tre forsøgsdage:

Dag ét: Dyrkning af VERO E6 celler.

Dag to: Klargøring af forsøg, udførelse af bestråling, infektion af VERO E6 celler og etablering af plaque assay.

Dag fem: Fremkaldelse af plaque assay, opsamling af data.

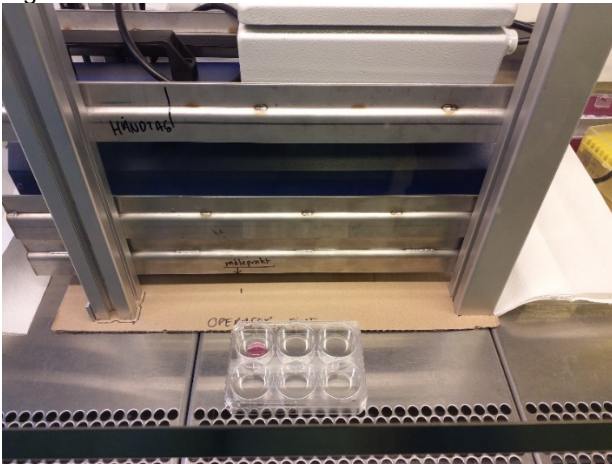
2x10⁶ pfu/mL SARS-CoV-2 stock fortyndes 10² i forvarmet (37°C) DMEM 2% (+Amp. B og PenStrep). 400µL overføres til midten af steril 6-brønds mikrotiterplade og behandles med UV-lys i 2, 4 og 8 sekunder ved hhv. 50 og 100mm afstand (Figur 1-3). Alle belysninger blev foretaget individuelt i hver sin mikrotiterplade. 300µL af den behandlede virussuspension overføres direkte til 6-brøndsplade med 24T konfluent VERO E6 cellekultur og inkuberes i 1T på vippebord v. 37°C. Dernæst agar overlay og etablering af plaque assay.

Resultater UV BARx1: Overlevende virioner per totalt behandlede virioner:

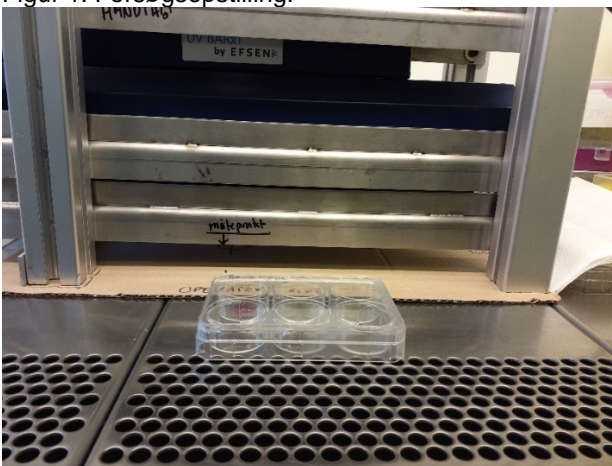
Afstand/eksponeringstid	2 sekunder	4 sekunder	8 sekunder
50mm	0/6 x 10 ³	0/6 x 10 ³	0/6 x 10 ³
100mm	0/6 x 10 ³	0/6 x 10 ³	0/6 x 10 ³

Konklusion: Alle behandlingskombinationer inaktiverer 100% af behandlede SARS-CoV-2 virioner dvs en reduktion på >log3 eller >99,9%.

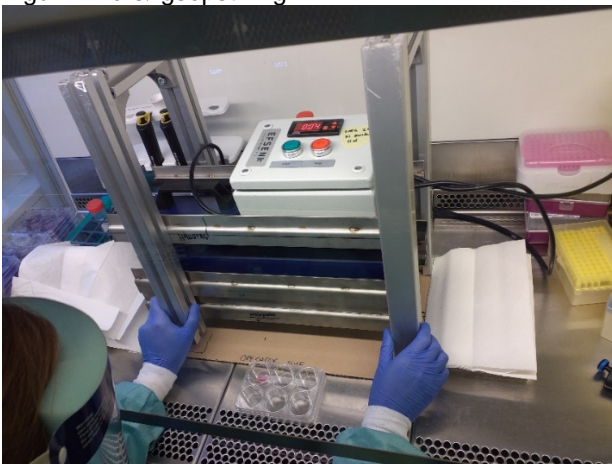
Figurer



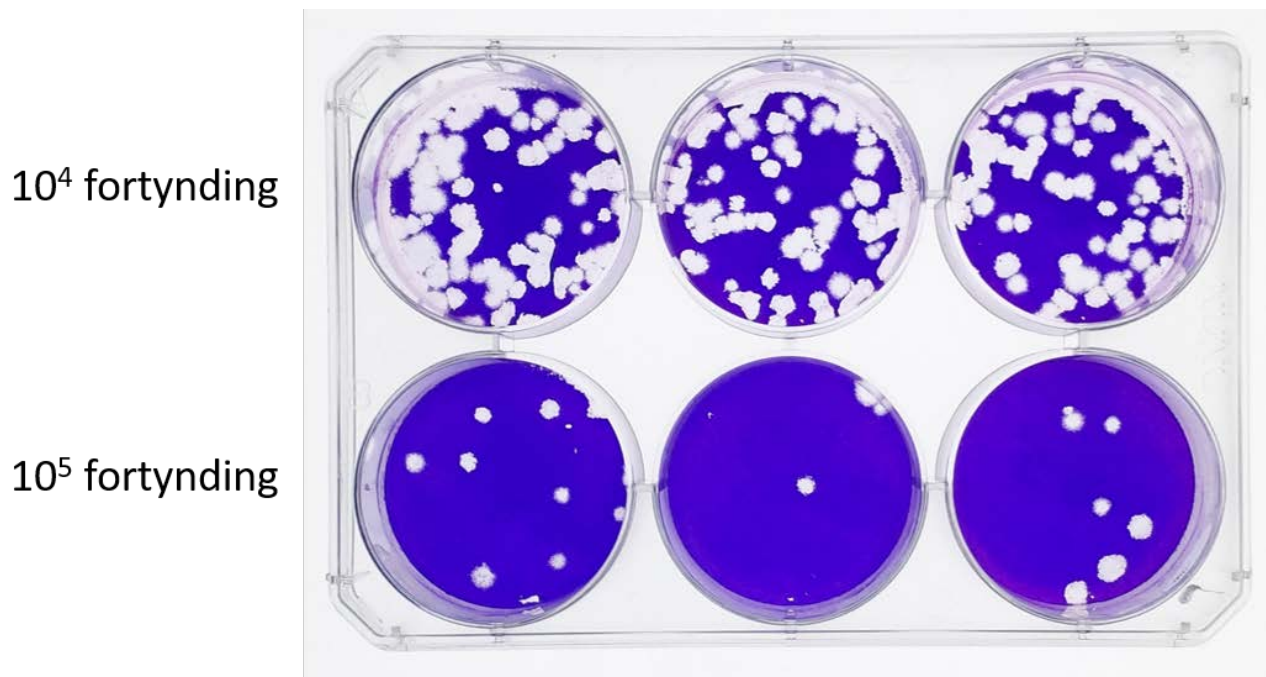
Figur 1. Forsøgsopstilling.



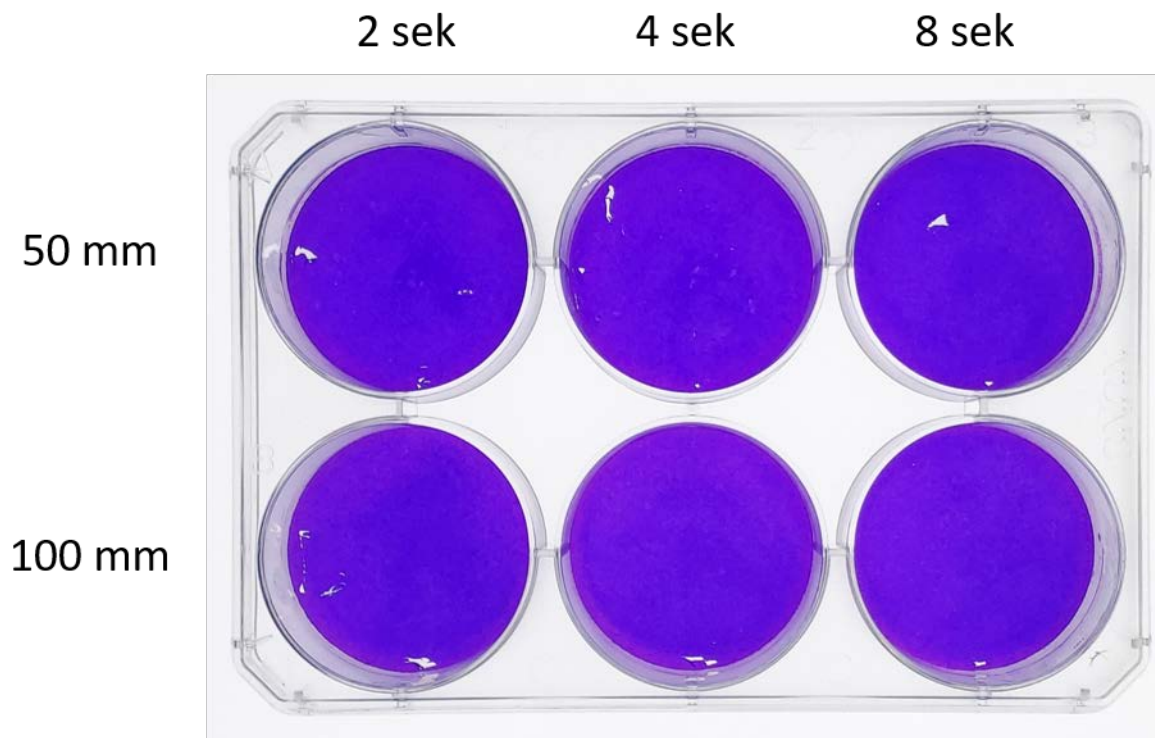
Figur 2. Forsøgsopstilling.



Figur 3. Forsøgsopstilling.



Figur 4. Ubehandlet virusstock. Kontrol dyrkning i triplikater af stock virussuspension. Øverste række: 10⁴ fortynding, 300ul per brønd. Nederste række: 10⁵ fortynding, 300ul per brønd. Ved 10⁵ fortynding registreres gennemsnitligt 6 plaques per brønd, svarende 6 x 10⁵ pfu per brønd (300µL) eller 2 x 10⁶ pfu/mL.



Figur 5. Plaque assay udført med virussuspensioner udsat for UV behandling (UV BARx1). Virussuspensionen er forud for forsøget fortyndet 10^2 svarende til at 6×10^3 pfu/300 μ L/brønd. Ingen plaques observeres svarende til at behandlingen resulterer i $>\log_3$ reduktion eller $>99,9\%$ reduktion i levedygtige viruspartikler.



Thomas Emil Andersen
Senior Researcher, Assoc. Prof., Ph.D.
Dept. of Clinical Microbiology
Odense University Hospital
J.B. Winsløvs Vej 21, 2.
DK-5000 Odense C
Phone: +45 21 26 16 34