



Sr. Jorge Reyes  
Lotus Spa.  
Santiago

---

Valparaíso, Septiembre 09, 2020.

Estimado Sr. Reyes

Junto con saludar, es de nuestro agrado dar cuenta de los ensayos de expresión de evaluación de efectos de aplicación aire ReSPR sobre muestras de COVID-1.

El presente informe da cuenta de la metodología aplicada, así como la representación gráfica de los resultados.

Nuevamente, agradecemos la confianza depositada en Movilvac & Technologies Ltda.

Atentos a sus consultas, les saludamos muy atentamente

3

**MOVILVAC**  
BIOTECNOLOGIA & BIONEGOCIOS  
Av. Pedro Montt 2482, Piso 3  
Valparaíso / www.movilvac.cl

Patricio Villalobos B.  
Dr. en Biotecnología  
Movilvac & Technologies Ltda





## Ensayos de ReSPR contra SARS-nCoV19

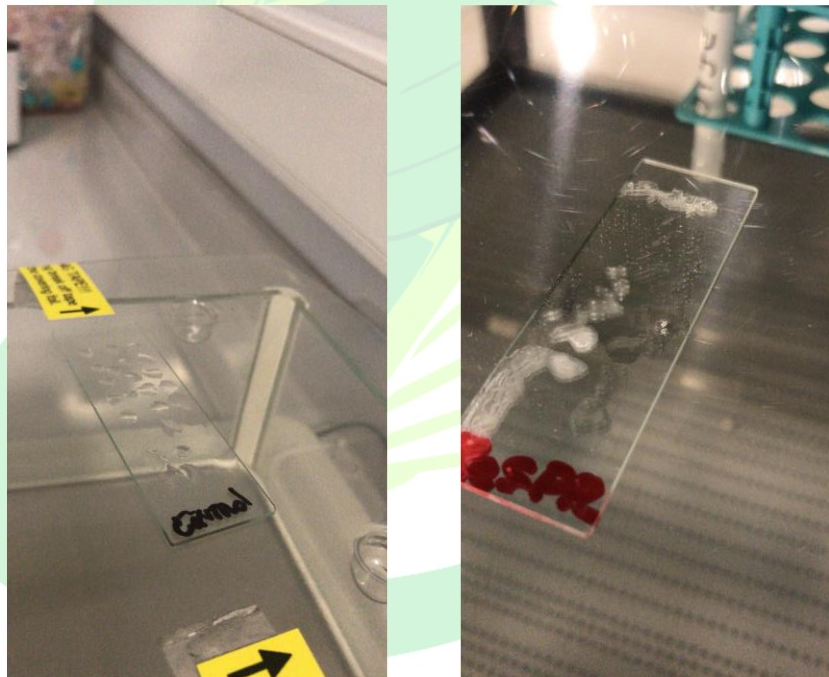
### Objetivo

Evaluar la viabilidad de SARS-nCoV19 a la producción de Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) generadas por el equipo ReSPR-Lotus Spa.

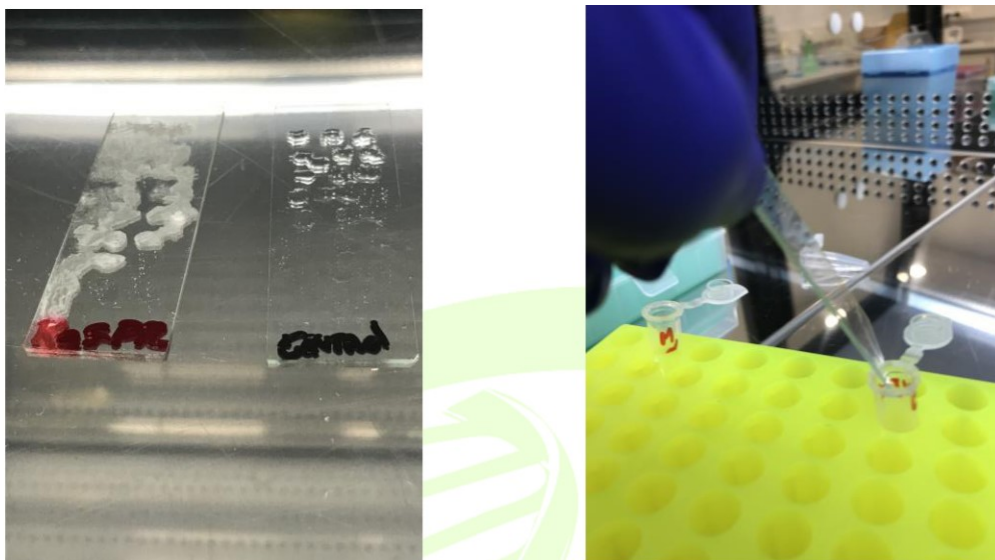
### Metodología

Muestras de fluido nasofaríngeo, confirmadas como COVID19 positivas, fueron expuestas a un ambiente de peróxido de hidrógeno generado por el equipo a consignación ReSPR. Para ello se dispusieron 25 spot de 2  $\mu$ l cada una sobre un portaobjetos y se sometieron a flujo constante de aire expandido por el equipo ReSPR, dentro del gabinete de bioseguridad.

A la muestra seca sobre el portaobjetos, se aplicó agua ultrapura para lavar a superficie y recolectar la muestra expuesta (Figura 2)



**Figura 1.** Esquema del diseño experimental. Portaobjetos de 2  $\mu$ l expuesta a  $H_2O_2$  expelido por el equipo ReSPR. Distancia de 40 cm desde la fuente gaseosa.



**Figura 2.** Portaobjetos después de 24 horas. Las muestras se recuperaron con agua ultrapura para la extracción de RNA viral.

El dispositivo generador del gas correspondió al equipo ReSPR 3001, entregado por LOTUS AIR SpA.

Las evaluaciones se realizaron amplificando por qPCR, dos genes de proteínas de cápside viral Covid-19, empleando el Kit de IDT-DNA, de qPCR.

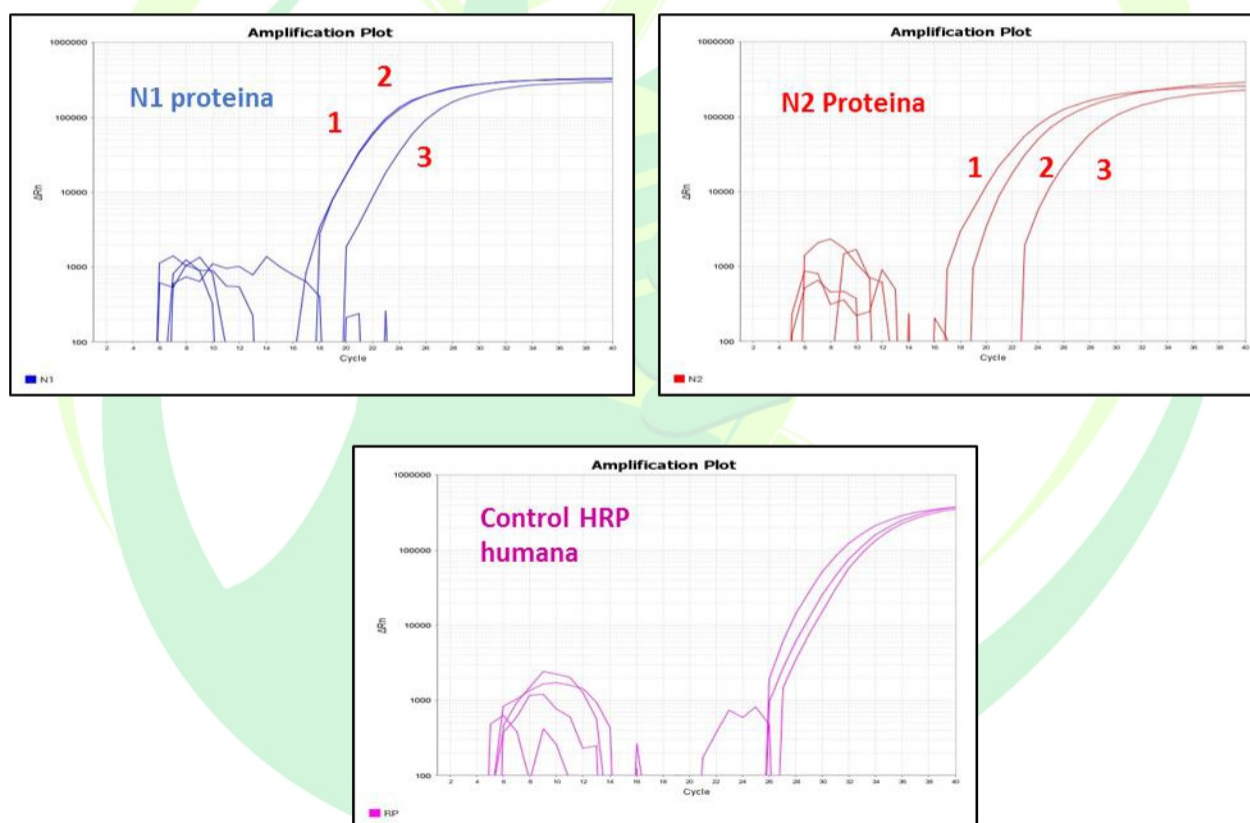
Posterior al tratamiento, se extrajo en RNA viral de cada una de las muestras. Una vez obtenido el material nuclear viral, 5  $\mu$ l de volumen de RNA viral, fue mezclado con primer dirigidos a genes de las proteínas de cápside N1 y N2. Se empleó como controles HRP humana, así como control de extracción y Material Covid19, positivo. Para la amplificación se empleó el equipo Thermofisher QS3, empleando sonda Taqman y FAM como reportero.



## Resultados qPCR

La figura 3 muestra gráfica de las amplificaciones resultantes de qPCR, luego de someter las muestras hasta su secado con aire y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generadas por el equipo ReSPR. Las gráficas se han ordenado para cada gen en forma separada.

En el primer cuadro se muestra las curvas Ct para gen proteína N1 (Figura azul), gen proteína N2 (figura rojo), y abajo, gen proteína RHP (figura violeta). Esta última empleada como control humano de la extracción. Tal como se observa, en ambas proteínas, N1 y N2, el efecto parece ser similar. Esto es, mientras que no se observan diferencias entre virus no tratado con aquel secado al aire, el efecto secado con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, muestra un desfase de dos ciclos respecto de los controles después de 24 horas de exposición al equipo en un sistema semi cerrado.



**Figura 3.** Curvas de amplificación para cada uno de los genes analizados en Covid19. **1**, corresponde a curva control +. **2**, curva muestra covid19 secado al aire. **3** curva de muestra Covid19 secada con ReSPR (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Cada una de las curvas es resultado de una amplificación por cada tratamiento. Los ciclos (eje x) equivalen al valor Ct respecto de sus niveles de fluorescencia (eje y) por cada muestra.



## Conclusión

- A juzgar por las curvas de amplificación obtenidas de este ensayo, el tratamiento de peróxido realizado con equipo ReSPR3001 muestra que es capaz de inhibir la capacidad infectiva de Coronavirus.
- Se sugiere que la mejor forma de evaluar el efecto de los gases peróxido es mediante ensayos de infectividad, lo que se logra con el uso de cultivos celulares.
- Cabe indicar que el análisis con cultivos celulares requiere del virus purificado, es decir un laboratorio de alta especialización. Por su riesgo, y grandes volúmenes de muestras infecciosas deben realizarse en no menos de un entorno a laboratorios del tipo Bioseguridad 3. Es decir, equipamiento mayor de seguridad.

