



Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi



## *Viroloji Anabilim Dalı*

---

### DENEYE DAYALI BİLİMSEL DEĞERLENDİRME RAPORU

---

Rapor No: 2021.02/01

Rapor tarihi: 23.02.2021

Proje Adı:

inDOR 200t ve Dezenmatik HS iyonizerli Hava Arındırma ve Koku Giderme Sistemlerinin Kapalı Ortam Antiviral Etkinlik Potansiyelinin Belirlenmesi

(BUÜ-TTO-Ar-Ge-20-039)





## KONU

PCS Elektronik Mühendislik Danışmanlık Bilgisayar İnşaat Sanayi ve Ticaret Ltd şti tarafından BUÜ-TTO Ar-Ge-20-039 kodlu Ar-Ge destek projesi kapsamında Anabilim Dalımıza elden teslim edilen inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının deneysel koşullarda antiviral etkinliğinin belirlenmesi.

## GENEL BİLGİ

2020 yılı başlarından itibaren dünya gündemine giren ve Ocak ayı sonlarında pandemi statüsüne yükseltilen COVID-19 salgını tüm dünyada hastalıkla mücadele ve önleyici tedbirler konusundaki çalışmaları tetiklemiştir. Bu süreçte değişik içerikli antiviral fonksiyona sahip ürün ve cihazların geliştirilme ve etkinliklerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar ön plana çıkmıştır. Pandemi sonrasındaki ilk aşamada Ar-Ge çalışmaları yüzey aktif biyosidal malzemelerin geliştirilmesi üzerine odaklanırken ilerleyen süreçlerde maske ve eldiven gibi koruyucu ekipmanların ve etkin aşuların geliştirilmesi üzerine odaklanılmıştır. Bu süreçte günlük hayatta “tam kapanma”nın mümkün olmadığına genel kabul görmesi üzerine, temel hayat ihtiyaçlarının karşılanabilmesi, sosyal hayatın sürdürülebilmesi, üretimin yeniden faal kılınması ve devlet organlarının işletilebilmesi gibi ihtiyaçlar nedeniyle, insan bulunan ortamların virus bulaşma riski açısından güvenilir kılınabilmesi için arayışlar başlamıştır. Yeni tip coronavirusun (SARS-CoV-2) başlıca bulaş yolunun hava aracılığı olması sebebiyle, kapalı ortamlarda kontrolsüz yayılabilmesi ve belirli bir süre canlı (enfektif) kalabilmesi önemli sorunlardan biridir. Dolayısıyla kapalı yaşam/çalışma ortamlarında hasta/enfekte bireylerin solunum yollarından saçılan virus partiküllerinin inaktive edilmesi veya etkinliğinin azaltılabilmesi ön plana çıkmaktadır. Ozonun bakterisidal etkinliği yanında viruslar üzerine de etkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak ortam havasına uygulanacak ozon miktarının oldukça dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi ve insan sağlığı için güvenli olduğu kabul edilen eşik değerlerin altında bulunması önem arz eder. Bu değerlerde uygulandığında ozonun coronaviruslar üzerine doğuracağı antiviral etkiler tam olarak bilinmemektedir. Oldukça kararsız bir kimyasal yapıda olan ve kısa sürede parçalanarak oksijene dönüşen ozonun, antimikrobiyel etkinliği yanında koku giderici etkilerinin de olduğu bilinmektedir.

Mevcut pandemi durumunun yarattığı etkiyle şekillenen yeniliklerden bir bölümünün pandemi sonrası dönemde de gündelik hayat akışında yer alması kaçınılmazdır. Dolayısıyla antiviral etkinlik geliştirilmesi ve bunun ölçümlerinin yapılabilmesine yönelik çalışmalar pandemi sonrası dönemde de güncelliğini koruyacak faaliyetlerdir.

Bu rapor ilgili özel veya tüzel kişilerin ürün geliştirme süreçlerine destek amacı taşımaktadır. Kurum tarafından izin verilmedikçe reklamasyon çalışmalarında ve yukarıda belirtilen amacı dışında kullanılamaz.





## ÇALIŞMANIN AMACI

Bu çalışma kapsamında PCS Elektronik Mühendislik Danışmanlık Bilgisayar İnşaat Sanayi ve Ticaret Ltd Şti (PCS Elektronik) tarafından üretimi/geliştirilmesi yapılan inDOR 200t ozon iyonizer cihazının temel bilimsel yaklaşımlara uygun olarak antiviral etkinlik ölçümlerinin yapılması amaçlanmıştır.

Analizler için gerekli olan deney ortamı (sızdırmaz deney kabini) PCS Elektronik teknik ekibiyle birlikte tasarlanmış ve imalatı yapılmıştır. Deney sistemi; düşük dozlardaki ozon uygulamasının zamana bağlı olarak oluşturduğu antiviral etkinliğin belirlenmesi üzerine kurgulanmıştır.

## MATERYALLER VE DENEY METODU:

### Deney düzeneği

inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının antiviral etkinliğini test edebilmek üzere iç ölçüleri (YxDxG) 130 x 66 x 76 cm olan hava giriş ve çıkışı kontrol altında olan izolasyonlu bir deney kabini tasarlandı. İmalatı yapılan bu deney ortamında “inDOR 200t Tavan Modülü” kabinin tavan kısmına yerleştirilirken ortam sıcaklığı, bağıl nem ile ozon miktarını ölçen ve ortamdaki ozon miktarının ayarlanan sınır değerler altında kalması için ozon sistemi ile kabin havalandırmasını kontrollü olarak çalıştıran “inDOR 200t Kontrol Modülü”, uygulama yapılacak alandaki ozon seviyesini doğru ölçebilmek amacıyla kabinin taban kısmına yakın olarak monte edildi (Resim 1).

Kullanılan sistemin çalışma prensibi şu şekildedir; eğer 1 dakika, 15 dakika, 2 saat ve/veya 8 saat ortalama ozon seviyeleri aşılsa havalandırma çalıştırılarak ozon üretimi durdurulmakta, ozon seviyesi bu değerlerin altına ve anlık olarak da 100 ppb altına indiğinde ozon sistemi çalıştırılmaktadır. Dolayısıyla kısa sürede ortamda yoğun ozon bulunmasına rağmen uzun sürede Tablo 1’de belirlenen ortalamalarda kalmaktadır.

**Tablo 1:** Deney düzeneğinde ayarlanan ortalama ozon seviyeleri

	Ortalama Ozon Seviyesi
1 dakika	300 ppb
15 dakika	200 ppb
2 saat	150 ppb
8 saat	120 ppb





Kurulan inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazına bilgisayar bağlanarak ölçtüğü sıcaklık, nem ve ozon değerleri ile ozon cihazını çalışma sürelerinin kayıt altına alınması sağlanmıştır. Ayrıca inDOR 200t Kontrol Modülü tarafından ölçülen ozon seviyelerini teyit etmek amacıyla ikinci bir test cihazı (OM-106L Ozon Monitörü) kabin içi ozon seviyesini ölçmek üzere kullanılmıştır (Resim 2).





### Test Virusu ve Hücre Kültürü

Güncel pandemi maruziyetini en iyi şekilde simüle edebilmek amacıyla antiviral test aşamasında kullanılmak üzere *Bovine coronavirus*-Mebus suşu (BCoV-Mebus) seçildi. Bir coronavirus türü olan ve COVID-19 etkeni SARS-CoV-2 ile aynı grupta yer alan BCoV, morfolojik ve Tablo 3'te sunulan genel virion özellikleri bakımından SARS-CoV-2 ile aynı nitelikleri taşımaktadır. Dolayısıyla özellikle antiviral maddelerle muamele sürecinde benzer etki mekanizmalarını temsil etmesi beklenir.

Testlerde kullanılan virusun üretilmesi işlemleri devamlı bir hücre hattı olan HRT-18 hücre kültürlerinde in vitro koşullarda gerçekleştirildi. Hücrelerin kültüre edilmesinde %10 fetal calf serum içeren DMEM vasatı kullanıldı. Virus titrasyonu ve antiviral etkinlik testlerinde de HRT-18 hücre hattından yararlanıldı. Bu aşamalarda mikrotitrasyon testi uygulandı. Proje kapsamında kullanılan BCoV suşunun ana stok virus süspansiyonundaki enfektif titre değeri  $\text{Log}_{10} \text{DKID}_{50} = 10^{7,00}/0,1 \text{ ml}$  olarak tespit edilmiştir.

**Tablo 2:** Deneyleerde kullanılan BCoV-Mebus suşu ve SARS-CoV-2'nin karşılaştırmalı özellikleri

Virus adı	Taksonomik özellikleri (Aile/cins)	Virion yapısı	Nükleik asit tipi	Nükleik asit özelliği	Hücrede çoğalma bölgesi
Bovine coronavirus (BCoV)	<i>Coronaviridae</i> , <i>Betacoronavirus</i>	Zarflı, Helikal simetrik	RNA	Tek zincirli	Hücre sitoplazması
SARS-CoV-2	<i>Coronaviridae</i> , <i>Betacoronavirus</i>	Zarflı, Helikal simetrik	RNA	Tek zincirli	Hücre sitoplazması

### Antiviral Etkinlik Deneyleri

Kurulan deney düzeninde öncelikle inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının etkin çalışmasını sınamak üzere sistem boş halde iken çalıştırılarak ölçümler yapıldı. İstenen sınır değerler arasında veriler elde edilmesi üzerine, sistemin antiviral etkinliğini test etmek üzere deney başlatıldı. Deney düzeninde  $\text{DKID}_{50}: 10^{7,00}$  BCoV-Mebus suşu steril cam petrilere 0,2 ml hacimde dağıtılarak uygulama yapıldı. nDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazı çalıştırıldı ve virus konulan petrilere kabine yerleştirildi (Resim 3). Virus süspansiyonuna deney kapsamında 30 dk, 1, 2, 4, 8, ve 24 saat sürelerle atmosferik oksijenden üretilen ozon (deney düzeneği bölümünde belirtilen seviyede) uygulaması yapıldı (*Test grubu*). Ayrıca kontrol grubu olarak, aynı şartlarda hazırlanan petrilere ozon uygulaması bulunmayan şartlarda deney alındı. Deney oda sıcaklığında ( $24 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) uygulandı. Her uygulama saati için 3 tekrar test

Bu rapor ilgili özel veya tüzel kişilerin ürün geliştirme süreçlerine destek amacı taşımaktadır. Kurum tarafından izin verilmedikçe reklamasyon çalışmalarında ve yukarıda belirtilen amacı dışında kullanılamaz.



yapıldı. Belirlenen uygulama süresi tamamlandığında deney kabini (test grubu) ve kabin dışı ortamda inkübe edilen petri kâğıtları alınarak in vitro mikrotitrasyon testi uygulandı.

Bu süreçte düzenli olarak ozon seviyesi ölçümleri bilgisayar ortamında kaydedilerek örnekleme saatlerinde gerek ortamda bulunan seviye gerekse üretilen ozon miktarları hesaplandı.



Resim 3: Petri kâğıtlarda deneyin uygulanışı

### BULGULAR:

Deney sürecinde uygulanan kabin içi ozon miktarları bilgisayar kayıtları üzerinden hesaplandı (Tablo 2). Buna göre atmosferik oksijenden üretilen kabin içi ozon düzeyi yukarıda açıklanan çalışma prensipleri doğrultusunda 1 dakika, 15 dakika, 2 saat ve/veya 8 saat ortalama ozon seviyelerini aşmayacak şekilde uygulandı.

Proje çalışmalarında elde edilen veriler aynı örnekleme saatinde *Test grubu* ve *Kontrol grubunda* elde edilen virus titre verilerinin belirlenmesi, karşılaştırılması, ozon uygulamasıyla ortaya çıkan değişimin hesaplanması ile bu değişimin logaritmik ve persental (%) olarak ifade edilmesi şeklinde değerlendirildi. Bu değerlendirmeler ışığında elde edilen veriler Tablo 3'de sunulmuştur. Buna göre  $DKID_{50}$ :  $10^{7,00}$  BCov-Mebus suşu ile yapılan deney sürecinde uygulanan 0,1ppm kabin içi ozon ortamında test ve kontrol grubu deneyler arasında 30dk'dan

Bu rapor ilgili özel veya tüzel kişilerin ürün geliştirme süreçlerine destek amacı taşımaktadır. Kurum tarafından izin verilmedikçe reklamasyon çalışmalarında ve yukarıda belirtilen amacı dışında kullanılamaz.

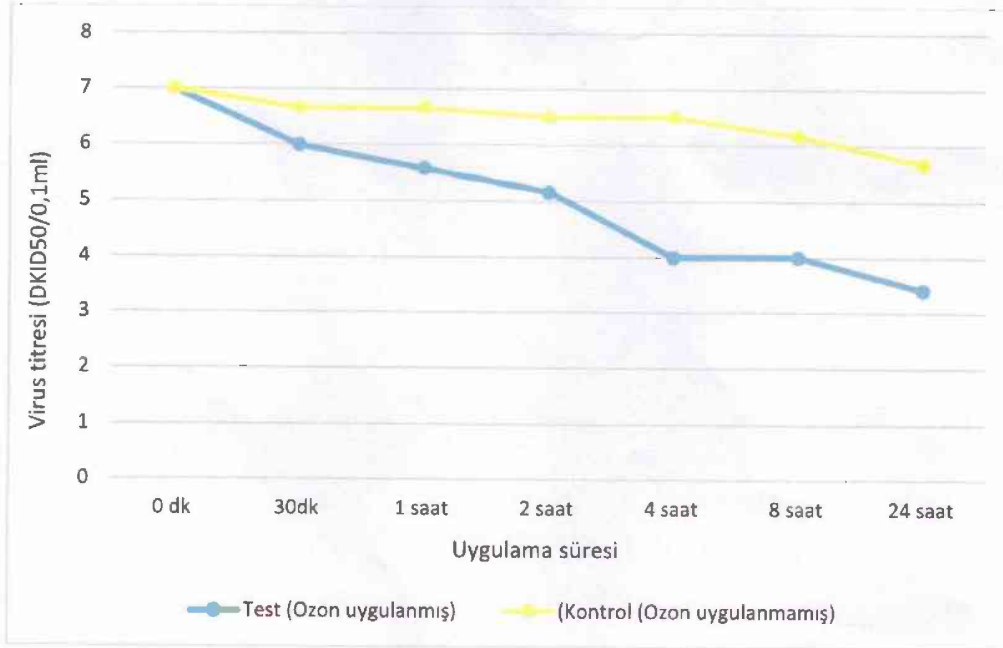




İtibaren farklılık oluşmaya başladığı görülmektedir (Tablo 3). Ozon uygulamasıyla efektif (canlı) virus titresinde ortaya çıkan azalma deneyin 1. saatinde %90,45, deneyin 2. saatinde %95,4 ; ve 4. saatten itibaren >%99 düzeyine ulaşmaktadır. Aynı zaman sürecinde (>4 saat) virus titresindeki logaritmik (Log10) azalış >2 seviyesinde tespit edilmiştir.

**Tablo 2:** inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazı ile yapılan testlerde deney sürecinde ölçülen kabin içi ozon değerleri.

	Ölçülen Ortalama Ozon Miktarı	Üretilen Ozon Miktarı
İlk 15 dakika ortalaması	86 ppb	6,0 mg
İlk 30 dakika ortalaması	119 ppb	11,6 mg
İlk 1 saat ortalaması	153 ppb	17,7 mg
İlk 4 saat ortalaması	161 ppb	35,0 mg
İlk 8 saat ortalaması	133 ppb	43,7 mg
İlk 24 saat ortalaması	127 ppb	81,2 mg



**Grafik 1:** inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazı antiviral etkinlik deneyinde kontrol ve test gruplarında belirlenen viral titre değerlerinin karşılaştırması



**Tablo 3:** inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının antiviral etkinlik deneyinde uygulama süresine bağlı olarak elde edilen canlı (enfektif) virus titre değişimleri

Uygulama Süresi	Deney Grubu	VİRAL TİTRE DEĞERLERİ			Canlı (Enfektif) Virus Sayısındaki Azalma (%)
		Viral Titre (DKID <sub>50</sub> )	Ortalama	Değişim	
-	Test virusu (Başlangıç)	10 <sup>7.00</sup>	-	-	-
30 dk	Test 1.1	10 <sup>6.00</sup>	10 <sup>6.00</sup>	Log 0,6	%74,8
	Test 1.2	10 <sup>5.75</sup>			
	Test 1.3	10 <sup>6.25</sup>			
	Kontrol 1.1	10 <sup>6.5</sup>	10 <sup>6.66</sup>		
	Kontrol 1.2	10 <sup>6.75</sup>			
	Kontrol 1.3	10 <sup>6.75</sup>			
1 saat	Test 2.1	10 <sup>5.25</sup>	10 <sup>5.58</sup>	Log 1,08	%90,45
	Test 2.2	10 <sup>5.75</sup>			
	Test 2.3	10 <sup>5.75</sup>			
	Kontrol 1.1	10 <sup>6.50</sup>	10 <sup>6.66</sup>		
	Kontrol 1.2	10 <sup>6.75</sup>			
	Kontrol 1.3	10 <sup>6.75</sup>			
2 saat	Test 1	10 <sup>5.00</sup>	10 <sup>5.16</sup>	Log 1,34	%95,4
	Test 2	10 <sup>5.25</sup>			
	Test 3	10 <sup>5.25</sup>			
	Kontrol 1	10 <sup>6.50</sup>	10 <sup>6.50</sup>		
	Kontrol 2	10 <sup>6.75</sup>			
	Kontrol 3	10 <sup>6.25</sup>			
4 saat	Test 3.1	10 <sup>5.00</sup>	10 <sup>4.00</sup>	Log 2.50	%99,68
	Test 3.2	10 <sup>4.50</sup>			
	Test 3.3	10 <sup>2.50</sup>			
	Kontrol 3.1	10 <sup>6.00</sup>	10 <sup>6.50</sup>		
	Kontrol 3.2	10 <sup>7.00</sup>			
	Kontrol 3.3	10 <sup>6.50</sup>			
8 saat	Test 4.1	10 <sup>3.75</sup>	10 <sup>4.00</sup>	Log 2.16	%99,30
	Test 4.2	10 <sup>4.50</sup>			
	Test 4.3	10 <sup>3.75</sup>			
	Kontrol 4.1	10 <sup>6.25</sup>	10 <sup>6.16</sup>		
	Kontrol 4.2	10 <sup>6.00</sup>			
	Kontrol 4.3	10 <sup>6.25</sup>			
24 saat	Test 5.1	10 <sup>3.50</sup>	10 <sup>3.41</sup>	Log 2.25	%99,43
	Test 5.2	10 <sup>4.25</sup>			
	Test 5.3	10 <sup>2.50</sup>			
	Kontrol 5.1	10 <sup>5.50</sup>	10 <sup>5.66</sup>		
	Kontrol 5.2	10 <sup>6.00</sup>			
	Kontrol 5.3	10 <sup>5.50</sup>			

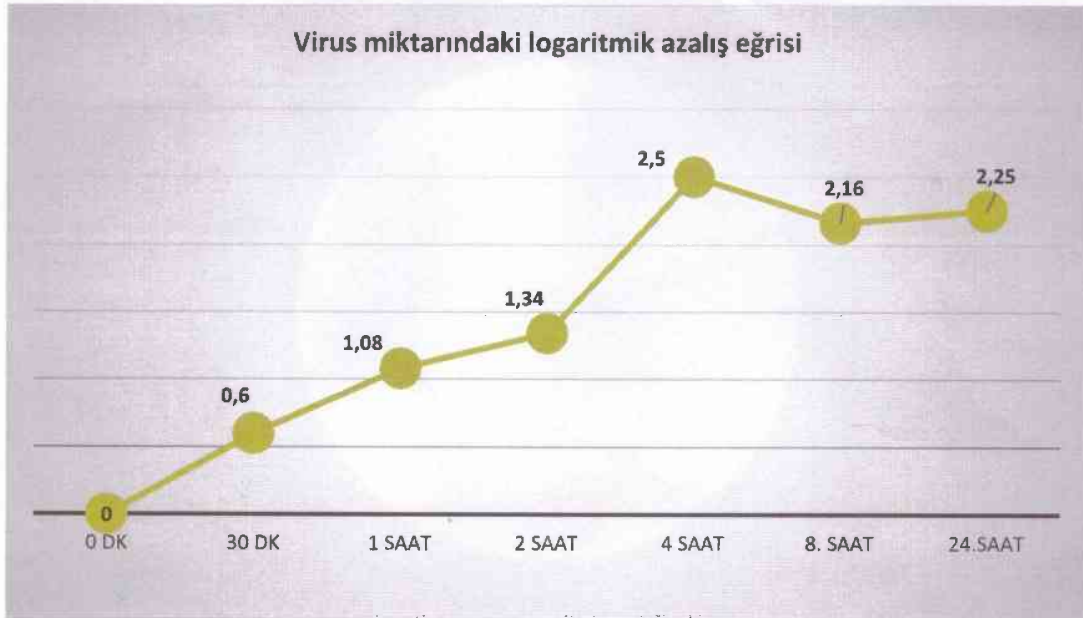
Bu rapor ilgili özel veya tüzel kişilerin ürün geliştirme süreçlerine destek amacı taşımaktadır. Kurum tarafından izin verilmediği takdirde reklamasyon çalışmalarında ve yukarıda belirtilen amacı dışında kullanılamaz.







**Grafik 2:** inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının zamana bağlı olarak oluşturduğu antiviral etkinlik düzeyi (%)



**Grafik 2:** inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının zamana bağlı olarak oluşturduğu antiviral etkinlik düzeyi (Log10)



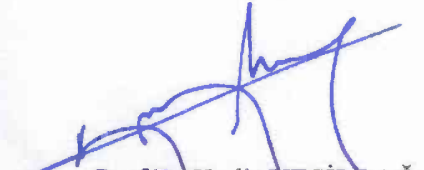


## GENEL DEĞERLENDİRME ve SONUÇ

Bu çalışmada PCS Elektronik Mühendislik Danışmanlık Bilgisayar İnşaat Sanayi ve Ticaret Ltd Şti tarafından üretimi/geliştirilmesi yapılan inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazının antiviral etki potansiyeli bir coronavirus türü olan *Bovine coronavirus* Mebus suşu üzerinde test edilmiştir. Bu kapsamda ulaşılan başlıca çıktılar aşağıdaki gibidir:

1. inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazı kullanılarak uygulanan testlerde hücreler üzerine herhangi bir sitotoksik etki belirlenmemiştir.
2. inDOR 200t cihazıyla yukarıda açıklanan çalışma prensipleri doğrultusunda 1 dakika, 15 dakika, 2 saat ve/veya 8 saat ortalama ozon seviyeleri aşılmadan uygulanan ozonun antiviral etkisi 30. dakikadan itibaren başlamaktadır.
3. Elde edilen antiviral etkinlik zamana bağlı olarak artış eğilimindedir.
4. Ortamdaki canlı (enfektif) virus miktarını uygulamanın 2. saatinde %95, 4. saatinden itibaren >%99 oranında azaltmaktadır.

Bu çalışma kapsamında test edilen inDOR 200t İyonizerli Hava Arındırma Cihazıyla elde edilen deney sonuçlarına göre, uygulama zamanına bağlı olarak yüksek düzeyde antiviral etkinlik potansiyeli taşıdığı değerlendirilmiştir.

  
Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ  
Viroloji Anabilim Dalı Başkanı

23/02/2021

