



WIER
GERADORES DE OZÔNIO

LAUDO TÉCNICO

HOTEL E MOTEL

GERADOR DE OZÔNIO
OZpro

AVISO LEGAL

É vedada a utilização deste material para finalidades comerciais, publicitárias ou qualquer outra que contrarie a realidade para o qual foi concebido. É proibida sua distribuição, exibição, publicação ou divulgação, total ou parcial, dos textos, figuras, gráficos e demais conteúdos sem prévia e expressa autorização da WIER, que é detentora da propriedade intelectual nos termos da Lei n. 9.279/1996 e da Constituição Federal.

LAUDO TÉCNICO OZpro

AMOSTRAGEM: MOTEL

Analises Microbiológicas - Método RODAC® (Superfícies) e M Air T® Millipore Air Test (Ar Ambiente)

Para comprovar o potencial e a eficiência dos geradores de ozônio WIER foram feitos testes para avaliação microbiológica de superfícies e do ar ambiente. O objetivo principal do monitoramento microbiano é obter estimativas representativas da carga biológica do meio em questão, antes e após a aplicação do Ozônio.

1. METODOLOGIA:

Todas as amostragens e análises contidas neste laudo foram realizadas pelo laboratório de microbiologia ControlBio, localizado na cidade de São Paulo/SP e encomendadas pela WIER Tecnologia Plasma e Ozônio, localizada na cidade de Florianópolis/SC. A WIER, por intermédio de sua equipe técnica, acompanhou todas as coletas das amostragens.

1.1 Metodologia para análise de superfícies (RODAC®):

O método utilizado foi o da Replicação de Organismos Diretamente em Ágar após Contato (RODAC®). O mesmo consiste em placas de detecção e contagem de organismos replicados, segundo a *United States Pharmacopeia* (USP) e *Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments* (USP).

Esse método fundamenta-se em uma avaliação quantitativa das superfícies, onde placas contendo meio de cultura previamente preparadas foram encostadas diretamente sobre as superfícies analisadas, exercendo uma suave pressão com os dedos sobre o centro da placa para garantir o contato com toda a superfície. Essa amostragem é feita antes e após a aplicação do ozônio, de acordo com os tempos estipulados para cada equipamento.

Por fim, o material foi armazenado pelo laboratório de microbiologia Controlbio, onde as placas foram incubadas. Após o período de incubação, foi realizada a contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC), conforme ISO 14698: 2004.

1.2 Metodologia para ar ambiente - Equipamento M Air T[®] (Millipore Air Test):

O método de sedimentação consiste em expor placas de Petri contendo os meios de cultura de escolha no ambiente a ser estudado, de forma que as partículas dispersas no ar sofram sedimentação forçada através da sucção pelo aparelho coletor M Air T[®]. O tempo de exposição das placas é padronizado para que o volume coletado de amostragem do ar seja de 250 litros, segundo exigência da metodologia aplicada *U.S. Pharmacopeia/National Formulary* (USP 40/NF 35, 2017).

2. REFERENCIAL TEÓRICO:

Segundo um estudo realizado por pesquisadores da Universidade de Houston/Texas (EUA) em quartos de hotel trouxe um resultado interessante a respeito da contaminação. Uma variedade de superfícies foi amostrada e foram testados os níveis de bactérias aeróbias totais e a contaminação bacteriana por coliformes (fecal) em cada uma das superfícies do ambiente.

Embora fossem esperadas amostras mais contaminadas em locais como o vaso sanitário e a pia do banheiro, eles também encontraram altos níveis de contaminação bacteriana em locais inusitados como no controle remoto da TV e no interruptor da lâmpada de cabeceira. O grau de contaminação microbiana do ar e das superfícies reflete um risco potencial de doença que aumenta proporcionalmente com a densidade dos microrganismos e a presença de espécies patogênicas ou potencialmente patogênicas (ZEMKE *et al.*, 2015; KLINE *et al.*, 2015; FU *et al.*, 2020).

As bactérias podem aderir a uma grande variedade de superfícies, incluindo vidros, metais e muitos polímeros diferentes, bem como a outras bactérias e células eucarióticas, através da formação de biofilmes que podem

ser prejudiciais tanto para a saúde humana quanto para a indústria. Elas têm um papel em muitas doenças como infecções do trato urinário, sistema respiratório, pele, oftalmológicas, entre outras infecções sistêmicas, além da incrustação biológica e corrosão de superfícies (TUSON; WEIBEL, 2013; BERNE *et al.*, 2018).

Dentre os microrganismos que podem participar de processos de adesão e gerar problemas de saúde pública ou de ordem econômica, ressalta-se: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus sp.* e *Enterococcus faecium*. Como exemplos de bactérias patogênicas pode-se citar *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. Desta forma, se não houver uma higienização efetiva em intervalos regulares, certamente haverá condições favoráveis ao crescimento microbiano e formação de biofilmes (SILVA JR., 2005).

Uma forma de prevenir a proliferação de bactérias e a formação de biofilmes é através da aplicação de ozônio na desinfecção de ambientes e superfícies. O ozônio atua inicialmente na membrana celular, sendo a superfície da célula microbiana o primeiro alvo a ser atingido. Sua ação antimicrobiana é decorrente da oxidação de glicolipídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, alterando a permeabilidade e causando sua rápida lise. O ozônio ataca também grupos sulfidril de enzimas, ocasionando o colapso da atividade enzimática celular. Assim, haverá ruptura das células e extravasamento de íons entre os meios, resultando na morte do microrganismo (KHADRE *et al.*, 2001).

3. RESULTADOS:

Foram realizados testes em uma suíte de motel na cidade de São Paulo (SP), para verificar a eficiência do gerador de ozônio **OZpro** na desinfecção de superfícies pelo método RODAC®.

Primeiramente, foi realizada uma amostragem antes da aplicação do ozônio (ponto zero) e após 30 e 60 minutos de aplicação do gerador de ozônio **OZpro**.

Para a análise do ar ambiente pelo método de sedimentação, foi feita uma amostragem do ar através da sucção pelo aparelho coletor M Air T® antes da aplicação do ozônio (ponto zero) e após 30 e 60 minutos de aplicação.

Conforme dados demonstrados no gráfico da Tabela 1, a aplicação do ozônio reduz em 89% o número de colônias bacterianas presentes nas superfícies, diminuindo de 36 UFC/25cm² para 4 UFC/25cm².

Para os fungos totais, houve uma redução de 84% no número de colônias, de 42 UFC/cm² para 7 UFC/cm², com 60 minutos de uso do gerador.

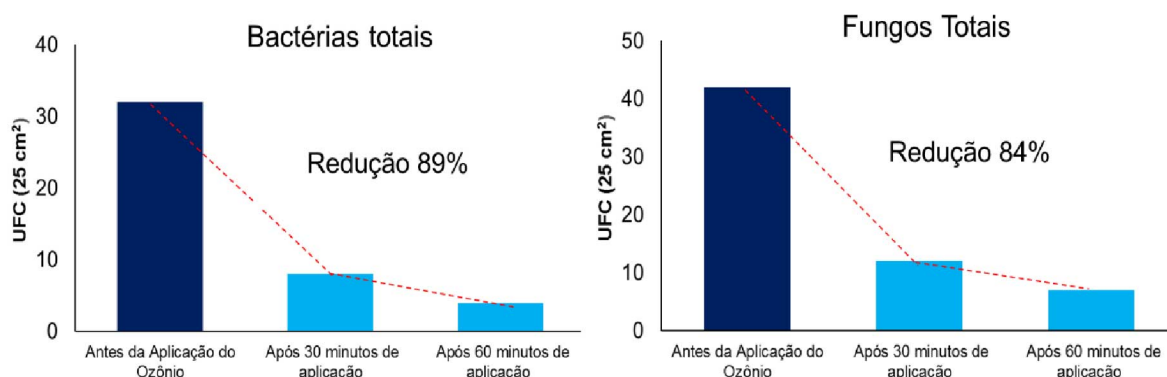


Tabela 1 - Metodologia RODAC® para análise de superfícies com o uso do equipamento OZpro.

Para ar ambiente, observa-se nos resultados dos testes apresentados na Tabela 2, uma redução de 90% das colônias bacterianas. Antes da aplicação, elas eram de 168 UFC/m³. Após, houve uma diminuição para 16 UFC/m³, com 60 minutos de uso do gerador de ozônio. Para fungos totais ocorreu uma redução de 76%, ou seja, de 320 UFC/m³ para 76 UFC/m³ após 60 minutos de uso do gerador de ozônio.

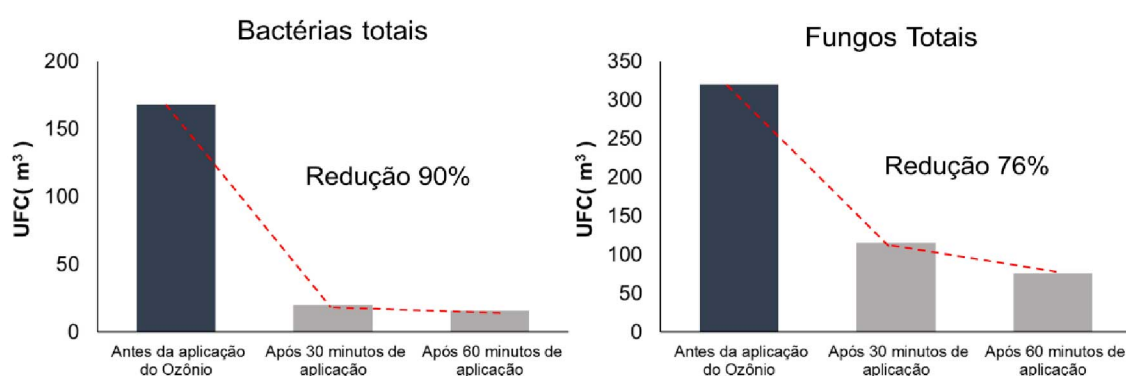


Tabela 2 - Análise de ar ambiente com o uso do equipamento OZpro.

Além de inativar os microrganismos presentes na superfície e no ar, o alto poder oxidante do gás ozônio auxilia no controle da reprodução de colônias e

proliferação de fungos e ácaros. Sua poderosa ação oxidante pode inibir bactérias e fungos, além de desodorizar o ambiente.

A descontaminação por ozônio também tem a vantagem de penetrar efetivamente em cada parte do ambiente, incluindo locais de difícil acesso através de uma limpeza manual (utilizando líquidos convencionais).

Os resultados obtidos com esses testes comprovam a eficiência do uso do gerador de ozônio **OZpro** na redução e inativação de fungos e bactérias nas superfícies e do ar ambiente do quarto de motel. A atividade antimicrobiana do O₃ gerado pelos equipamentos foi efetiva para todas as áreas investigadas, com registros de redução significativa do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) após o uso.

REFERÊNCIAS

BERNE, Cecile et al. **Bacterial adhesion at the single-cell level**. Nature Reviews Microbiology, v. 16, n. 10, p. 616-627, 2018.

BOTTONE, Edward J. **Bacillus cereus, a volatile human pathogen**. Clinical microbiology reviews, v. 23, n. 2, p. 382-398, 2010.

FLACH, J.; KARNOPP, C.; CORÇÃO, G. **Biofilm formation from milk in contact with raw material: virulence factors involved**. Acta Scientiae Veterinariae, v. 33, n. 3, p. 291-296, 2005.

FU, Xi et al. **Continental-Scale Microbiome Study Reveals Different Environmental Characteristics Determining Microbial Richness, Composition, and Quantity in Hotel Rooms**. Msystems, v. 5, n. 3, 2020.

ISMAÏL, Rached et al. **Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: a review of the literature**. International journal of environmental research and public health, v. 10, n. 11, p. 6169-6183, 2013.

KIM, Jin-Gab; YOUSEF, Ahmed E.; DAVE, Sandhya. **Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review**. Journal of food protection, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

KLIN, Sheryl Fried et al. **How Clean Are Hotel Rooms? Part II: Examining the Concept of Cleanliness Standards**. 2015.

KOMANAPALLI, I. R.; LAU, B. H. S. **Inactivation of bacteriophage k, Escherichia coli, and Candida albicans by ozone**. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 49, n. 6, p. 766-769, 1998.

KWON-CHUNG, K. J.; SUGUI, J. A. ***Aspergillus fumigatus* – What makes the species a ubiquitous human fungal pathogen?** PLOS Pathogens, v. 9, n. 12, p. 1-4, 2013.

KWON-CHUNG, Kyung J.; SUGUI, Janyce A. *Aspergillus fumigatus*—what makes the species a ubiquitous human fungal pathogen? PLoS Pathog, v. 9, n. 12, p. e1003743, 2013.

LI, CHIH-SHAN; WANG, Yu-Chun. **Surface germicidal effects of ozone for microorganisms.** Aiha Journal, v. 64, n. 4, p. 533-537, 2003.

LI, C. S., WANG, Y. C. **Inactivation Effects of Airborne Ozone for Bioaerosols.** *J. Environ. Heal.*, submitted.2005.

MATHÉ, Lotte; VAN DIJCK, Patrick. **Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms.** Current genetics, v. 59, n. 4, p. 251-264, 2013.

MONROE, D. **Looking for Chinks in the Armor of Bacterial Biofilms.** Plos Biology. Vol 5, Issue 11., e 307. November, 2007.

PELCZAR Jr., J. M. **Microbiologia: conceitos e aplicações**, vol. I, 2a ed., São Paulo, Makron Books. (1997).

RAMPLING, A.; WISEMAN, S.; DAVIS, L.; HYETT, A.P.; WALBRIDGE, A.N.; **Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** J. Infect. Soc.,v. 49, p. 109-116. 2001.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. **Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization.** 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 1999. 826 p.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação.** 6. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005.

TUSON, Hannah H.; WEIBEL, Douglas B. **Bacteria–surface interactions.** Soft matter, v. 9, n. 17, p. 4368-4380, 2013.

USP, **Microbial Evaluation and Classification of Clean Rooms and Clean Zones - In Process Revision**, Pharm Forum. 18(5), 1992: 4042-4054.

USP, **Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments**, USP 35 vol. 1 2012a, 2012: pp. 697-707.

VARTOUKIAN, Sonia R.; PALMER, Richard M.; WADE, William G. **Strategies for culture of ‘unculturable’ bacteria.** FEMS microbiology letters, v. 309, n. 1, p. 1-7, 2010.

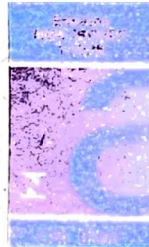
VLAMAKIS, Hera et al. **Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way.** Nature Reviews Microbiology, v. 11, n. 3, p. 157-168, 2013.

WICKRAMANAYAKE, G. B. **Disinfection and sterilization by ozone**. In: BLOCK, S. S. (Ed.). Disinfection and sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991. p. 182-190.

WINN Jr. W., ALLEN, S., JANDA, W., KONEMAN, E., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, G. W. **Koneman – Diagnóstico Microbiológico**. 6. ed. texto e atlas coloridos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

ZEMKE, Dina Marie V. et al. **Hotel cleanliness: will guests pay for enhanced disinfection?**, International Journal of Contemporary Hospitality Management, 2015.





Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site do ANVISA
<http://www.anvisa.gov.br/infoc/infobio/infobio.htm>

RELATÓRIO DE ENSAIO Nº98310/2020A AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE SUPERFÍCIE

São Paulo, 03 de Junho de 2020.	
WIER TECNOLOGIA PLASMA E OZÔNIO LTDA.	Via José Carlos Daux, km.01 - Rod. SC 401 600 - Ed. Celta
Solicitante: Diego Vitti	CEP 88030-000 - Florianópolis - SC

Material: Superfície(s)	Equipamento Teste: OZ PRO	
Condições de coleta: Amostragem direta em placa Rodac	Data de entrada: 29/05/2020	Hora de entrada: 19:30
Condições de transporte: t. ambiente	Responsável pela amostragem: Controlbio	

N.º da Amostra	Local da amostragem/Tempo de aplicação	Pesquisa de bactérias UFC/25cm ²	Pesquisa de fungos UFC/25cm ²
OS 98310/01	Harmony Motel Suíte 30 - Estrutura de Madeira da Cama Antes da Aplicação do Ozônio	36	42
OS 98310/02	Harmony Motel Suíte 30 - Porta do Frigobar Após 30 minutos da Aplicação do Ozônio	8	12
OS 98310/03	Harmony Motel Suíte 30 - Mesa Oriental Após 60 minutos da Aplicação do Ozônio	4	7
Limite de Quantificação do Método		1UFC/25cm ²	1 UFC/25cm ²

UFC: Unidade Formadora de Colônia; NR: Não realizado, Não Referido

Metodologia: Segundo <1116> U.S. PHARMACOPEIA- USP 42 NF 37, 2019.

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

Diretora Técnica	Gerente de Laboratório
Maria José Silveira CRBio.: 18.098-01	Paula de Maio Trezza CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.
Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP
Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025
sob número CRL 0545, escopo disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rble/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br

RELATÓRIO DE ENSAIO N°98314/2020A
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AR

São Paulo, 03 de Junho de 2020.

Endereço: Via José Carlos Daux, km 01 - Rod. SC 401 600 - Ed. Celfa - CEP 88030-000 - Florianópolis - SC

Material: Ar ambiente Localidade: Harmony Motel

Data da amostragem: 29/05/2020 Data de entrada: 29/05/2020

Equipamento Teste: OZ PRO

Hora da entrada: 19:30 Responsável pela amostragem: Controlbio

Método de amostragem: Impactação do ar em placas de Petri contendo meio de cultivo específico para crescimento de fungos e bactérias.

Equipamento utilizado: M Air T - Millipore Air Test

Volume amostrado: 250 Litros

Período de incubação: 3 dias para bactérias e 5 dias para fungos

Temperatura: 30-35°C (bactérias) e 20-25°C (fungos)

Localidade	Tempo de aplicação	Bactérias		Fungos	
		UFC/m ³	% de redução	UFC/m ³	% de redução
Suíte 30	Antes da Aplicação do Ozônio	168	0,00%	320	0,00%
Suíte 30	30' da Aplicação do Ozônio	20	88,10%	116	63,75%
Suíte 30	60' da Aplicação do Ozônio	16	90,48%	76	76,25%
Limite de Quantificação do método					
1 UFC/m ³					

Metodologia: U.S. PHARMACOPEIA/ NATIONAL FORMULARY - USP 40/ NF 35, 2017; Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia da Qualidade para Sistemas de Tratamento de Ar e Monitoramento Ambiental na Indústria Farmacêutica, 2013; Organização Mundial de Saúde "WHO Technical Report Series, No. 961, 2011- annex 6- Good Manufacturing Practices for Sterile Products".

Observação: Este ensaio tem seu valor restrito somente à(s) amostra(s) entregue(s) a CONTROLBIO. O presente documento de resultado(s) de ensaio(s), foi emitido em uma via original, respondendo o Laboratório, apenas pela veracidade desta via.

Diretora Técnica

Maria José Silveira
CRBio.: 18.038/01

Gerente de Laboratório

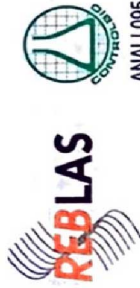
Paula de Maio Trezza
CRBio.: 43.933/01-D

Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica SS Ltda.

Rua Com. Elias Assi, 645 - Caxingui - CEP 05516-000 - São Paulo - SP

Laboratório de Ensaio acreditado pelo Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rbe/tdcs/CRL0545.pdf>

Visualize os ensaios realizados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site do ANVISA.

http://www.anvisa.gov.br/reblas/anali/analico_095.htm



NBR ISO/IEC 17025