



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 06 de novembro 2020

Empesa Solicitante:

WIER TECNOLOGIA PLASMA E OZONIO LTDA

Endereço: Parque Tecnológico Alfa

Rod. José Carlos Daux, Km 01, no 600

Edifício Celta, 2o andar, sala 107

João Paulo, Florianópolis – SC

Cep 88030-000

Fone: 48 3236-5791

Dr. Bruno Mena Cadorin

CEO WIER

www.wier.com.br

Laudo Virucida Gerador de Ozônio em Água Modelo Sanit

Vimos por meio desta enviar a V.Sa. o laudo do teste de eficácia no combate a vírus.

1) Produto:

- Gerador de Ozônio WIER, modelo SANIT
Equipamento gerador de gás ozônio destinado para seu borbulhamento em água a fim de atuar na descontaminação, combatendo microrganismos presentes na superfície de alimentos como frutas e verduras, além de chupetas, talheres, garrafas e outros utensílios.
- Dimensões: 50 mm (altura), 200 mm (largura), 300 mm (profundidade);
- Peso: 1.250 g;
- Tensão de operação da fonte de alimentação: AC 100 – 240 V (Bivolt Automático);
Frequência: 50Hz/60Hz;

2) Vírus testado: Coronavírus cepa MHV-3 gênero *Betacoronavirus* (mesmo gênero e família das espécies SARS-CoV-1, SARS-CoV-2/Covid19, MERS e outros)

Vírus	Linhagens Celulares
Coronavírus MHV-03	Célula: L929 NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L] (ATCC® CCL-1™)

3) Procedimento experimental:

- a) Os ensaios foram realizados em laboratório NB-2 (Biosafety Level 2) seguindo as Recomendações da ANVISA Art. 1 e Art. 3 da IN 04/13 e IN 12/16 (obedecendo as Boas Práticas de Laboratório-BPL), metodologias descritas nas normas (EN14476:2015, ASTM E1053 – 11 e do Instituto Robert Koch – RKI).



Cidade Universitária “ZEFERINO VAZ”, 06 de novembro 2020

- b) Os testes foram realizados em quadruplicata (quatro repetições biológicas):
- A primeira etapa dos ensaios foi realizar a “Determinação da Concentração Máxima não tóxica (CMNT)” nas diferentes células testadas, para determinar a concentração que não causa toxicidade para as células. Pois a substancia teste (água ozonizada) deve ser ativa somente contra o vírus e não às células.
- c) O equipamento gerador de Ozônio em Água Modelo Sanit foi acoplado com tubo, que produz O₃, ligado por 30 minutos dentro da água ultrapura contida na proveta de 1000 mL. Após transcorrido o tempo foram divididas em duas amostras:
Amostra 1: 300 µL H₂O-O₃ + 300 µL vírus (Líquido);
Amostra 2: 500 µL H₂O-O₃ + suabe embebido com vírus.
Ambos foram submetidos a diferentes tempos, 30 segundos, 1 minuto e 5 minutos de exposição (água com ozônio e vírus).
- d) As microplacas com **Produto** mais vírus e sistema celular (L929) foram incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 horas.
- e) Os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.
Os resultados são expressos em **percentual inativação viral** (Tabela 1) em comparação com o controle viral (título do vírus) não tratado.

Controles:

- Negativo: controle celular (2×10^5 células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra Teste;
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10^1 a 10^{12}) e cultura de células em meio DMEM;
- Teste positivo: presença de vírus, amostra teste e linhagem celular em meio DMEM.

Tabela 1 - Os resultados são expressos em percentual de inativação viral em comparação com o controle viral não tratado:

Log de Redução	Fator de Redução	Percentual de Inativação/Redução
1	10	90%
2	100	99%
3	1000	99,9%
4	10.000	99,99%
5	100.000	99,999%
6	1.000,000	99,9999%

<https://microchemlab.com/information/log-and-percent-reductions-microbiology-and-antimicrobial-testing>

Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 06 de novembro 2020

4) Resultados:

Tabela 2: Produção ozônio em água do Equipamentos WIER modelo SANIT e aplicado em diferentes tempos sobre Coronavírus cepa MHV-3

O equipamento gerador de Ozônio em Água Modelo Sanit	Tempos de contato	Resultado inativação em Percentual (tabela 1) Coronavírus MHV-3
Amostra 1: 300 µL H ₂ O-O ₃ + 300 µL vírus (Líquido)	30 segundos	99,9%
	1 minuto	99,9%
	5 minutos	99,9%
Amostra 2: 500 µL H ₂ O-O ₃ + suabe embebido com vírus	30 segundos	99%
	1 minuto	99,9%
	5 minutos	99,9%

5) Conclusões:

- O equipamento gerador de Ozônio em Água Modelo Sanit inibiu até 99.9% o vírus testado;
- Portanto, recomendamos o uso do **equipamento gerador de Ozônio em Água Modelo Sanit** para o uso no combate do grupo Coronavírus.



Prof. Dr. Clarice Weis-Arns (ID Lattes: 8635038112182716)

(Responsável pelo Laudo)



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 06 de novembro 2020

Bibliografia Consultada:

ANVISA - Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 2 DE JULHO DE 2013

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/int0004_02_07_2013.html

ANVISA- INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12, DE 11 DE OUTUBRO DE 2016 – ANVISA.

<https://alimentusconsultoria.com.br/instrucao-normativa-no-12-2016-anvisa/>

<https://alimentusconsultoria.com.br/instrucao-normativa-in-no-50-de-3-de-dezembro-de-2019-anvisa/>

BS EN 16777:2018: Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area

BS EN 14476:2013+A2:2019

Incorporating corrigendum August 2019

Chemical disinfectants and antiseptics -Quantitative suspension test for the evaluation

of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/Step 1)

BS EN 16777:2018: *Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area*

DIN EN 14476:2015. Chemical disinfectants and antiseptics. Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine. Test method and requirements [phase 2, step 1]. Brussels 2015, CEN-Comité Européen de Normalisation.

Britta Becker, Lars Henningsen, Dajana Paulmann, Birte Bischoff, Daniel Todt , Eike Steinmann, Joerg Steinmann, Florian H. H. Brill and Jochen Steinmann

Evaluation of the virucidal efficacy of disinfectant wipes with a test method simulating practical conditions

Antimicrobial Resistance and Infection Control (2019) 8:121

<https://doi.org/10.1186/s13756-019-0569-4>

G. Kampf D., Todt, S. Pfaender , E. Steinmann

Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents

Journal of Hospital Infection 104 (2020) 246e251

<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022> 0195-6701

Rabenau HF, Schwebke I, Blumel J, Eggers M, Glebe D, Rapp I, Sauerbrei A, Steinmann E, Steinmann J, Willkommen H, Wutzler P.

Guideline of the German Association for the Control of Virus Diseases (DVV) e.V. and the

Robert Koch-Institute (RKI) for testing chemical disinfectants for effectiveness against viruses in human medicine. Version of 1st December, 2014.

Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2015;58: 493–504

Reed LJ, Muench H.

A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Am J Hyg. 1938; 27:493–497.