



WIER
GERADORES DE OZÔNIO

LAUDO TÉCNICO

VEÍCULOS

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: VEÍCULO

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:

Um estudo realizado pelo Prof. Dr. Ron Cutler, da Universidade de Queen Mary, em Londres, chegou a uma conclusão peculiar analisando amostras do ambiente interno de carros e de banheiros públicos. Em média, existem 700 bactérias e organismos vivos diferentes nos volantes de veículos para cada 6,45 cm², o que equivale a quase 10 vezes o número de espécimes encontrados em assentos de banheiros públicos. De acordo com esse estudo, o carro pode se transformar em um lugar bastante propício para a transmissão de muitas doenças (GOŁOFIT-SZYMCZAK *et al.*, 2019).

Uma variedade de contaminantes microbiológicos podem ser transmitidos pelo ar dentro dos veículos através de minúsculas gotículas ou partículas de poeira invisíveis a olho nu. Estes são os chamados bioaerossóis, que consistem em microbiota dispersa no ar, sendo compostos por fungos, bactérias, algas, vírus, cistos de protozoários e outros.

A exposição a bioaerossóis, principalmente os fúngicos, tem sido associada a uma série de efeitos prejudiciais à saúde, como por exemplo, o

aparecimento de asma em bebês e adultos. Destaca-se também manifestações respiratórias alérgicas como rinite, sinusite, pneumonia, onicomicose, infecções oculares, do trato respiratório e urinário; irritações em mucosas e pele e até fungemias, provocadas pela exposição de indivíduos sensíveis aos propágulos e metabólicos toxigênicos desses microrganismos (JAAKKOLA *et al.*, 2010; KARVALA *et al.*, 2010; GIBERT, STEPHENS, 2018).

Dessa forma, quando não higienizado de forma correta e regular, o seu carro pode se tornar um potencial incubador para colônias de bactérias e fungos e se transformar em um lugar bastante propício para a transmissão de doenças (GIBERT, STEPHENS, 2018).

Uma forma de prevenir a proliferação de bactérias e a formação de bioaerossóis 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 glicolípídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, alterando a permeabilidade e causando sua rápida lise. O ozônio ataca também grupos sulfidríla 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 um veículo de passeio (modelo Ford KA, placa FUP2549) para verificar a eficiência do gerador de ozônio **OZpro** na desinfecção das superfícies pelo método RODAC®.

Primeiramente, foi realizada uma amostragem antes da aplicação do ozônio (ponto zero) sobre o painel do lado do motorista, após 10 minutos de aplicação uma segunda amostragem do banco do motorista e após 20 minutos de aplicação a terceira amostragem do assento do passageiro do veículo.

Para a análise do ar ambiente, foi realizada uma amostragem do interior do veículo antes da aplicação do ozônio (ponto zero) e após 10 minutos e 20 minutos de aplicação com o gerador **OZpro**.

Os resultados, apresentados na Tabela 1, mostram uma redução na contagem de microrganismos (UFC) para fungos totais após a aplicação do

gerador de ozônio. Foi observada uma redução de 97% no número de fungos totais presentes nas superfícies analisadas, ou seja, de 36 UFC/25cm² para 1 UFC/25cm² com 20 minutos de uso do equipamento. Para os fungos presentes no ar houve uma redução 82%, de 224 UFC/m³ para 40 UFC/m³ com 20 minutos de uso do gerador **OZpro**, como poder ser visto na Tabela 2.

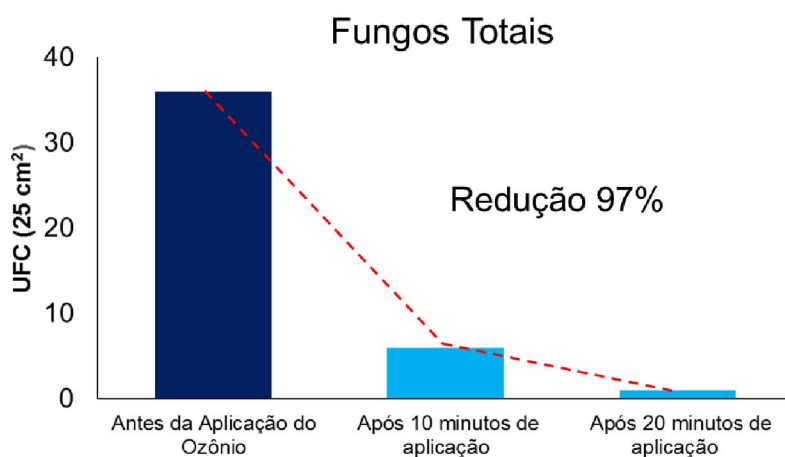


Tabela 1 - Metodologia RODAC[®] para análise de superfície com uso do equipamento OZpro

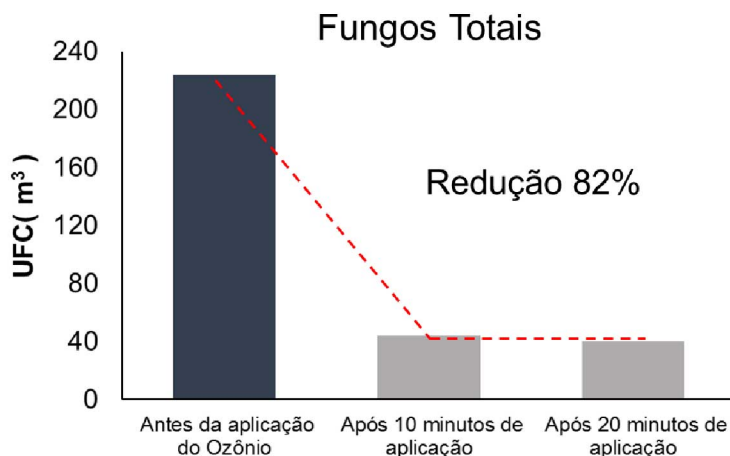


Tabela 2 - Análise do ar ambiente no interior do veículo com uso do equipamento OZpro

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 veículo, incluindo locais de difícil acesso através de uma limpeza manual (utilizando líquidos convencionais).

Diante dos resultados obtidos com esses testes, comprovamos a eficiência do uso do gerador de ozônio **OZpro** na redução e inativação de fungos e bactérias nas superfícies e ar do interior de veículos. A atividade antimicrobiana do O₃ gerado pelos equipamentos da WIER 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.

GILBERT, Jack A.; STEPHENS, Brent. **Microbiology of the built environment**. Nature Reviews Microbiology, v. 16, n. 11, p. 661-670, 2018.

GOŁOFIT-SZYMCZAK, Małgorzata; STOBNICKA-KUPIEC, Agata; GÓRNY, Rafał L. **Impact of air-conditioning system disinfection on microbial contamination of passenger cars**. Air Quality, Atmosphere & Health, v. 12, n. 9, p. 1127-1135, 2019.

GRUMACH, A.S. **Alergia e imunologia na infância e na adolescência**. São Paulo: Atheneu. (2001).

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.

JAAKKOLA, Jouni JK; HWANG, Bing-Fang; JAAKKOLA, Maritta S. **Home dampness and molds as determinants of allergic rhinitis in childhood: a 6-year, population-based cohort study.** American journal of epidemiology, v. 172, n. 4, p. 451-459, 2010.

KARVALA, Kirsi et al. **New-onset adult asthma in relation to damp and moldy workplaces.** International archives of occupational and environmental health, v. 83, n. 8, p. 855-865, 2010.

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.

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.

MEZZARI, A.; PERIN, C.; JUNIOR, S.A.S.; BERND, L.A.G.; DI GESU, G. **Fungos Anemófilos e Sensibilização em Indivíduos Atópicos em Porto Alegre.** Rev. Inst. Medicina Tropical. vol 44, n. 5, p. 269-272, 2002.

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

PASTUSZKA, J. S. et al. **Bacterial and fungal aerosol in indoor environment in Upper Silesia, Poland.** Atmospheric Environment, v.34, n.3, p.3833-3842, 2000.

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.

ROOS, C. et al. **Studies on fungal and bacterial population of air-conditioned environments**. Brazilian Archives of Biology and Technology, Curitiba, v. 47, p. 827-835, set. 2004

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. G X P

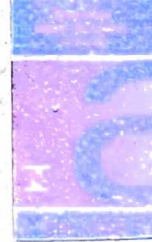
USP, **Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments**, USP 35 vol. 1 2012a, 2012: pp. 697-707.

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 Febiyer, 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.



REBLAS



ANALI 095

Instituto Analítico Habilitado pela ANVISA

Fora do escopo do site do ANVISA.
http://www.gov.br/reblas/bioanalitico_095.htm

**RELATÓRIO DE ENSAIO Nº98309/2020A
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: 28/05/2020	Hora de entrada: 12:00
Condições de transporte: t. ambiente	Responsável pela amostragem: Controlbio	

N.º da Amostra	Local da amostragem/Tempo de aplicação	Pesquisa de fungos UFC/25cm ²
OS 98309/01	Painel lado do Motorista Veículo Ford KA FUP2549 Antes da Aplicação do Ozônio	36
OS 98309/02	Encosto Banco do Motorista Veículo Ford KA FUP2549 Após 10 minutos da Aplicação do Ozônio	6
OS 98309/03	Assento do Passageiro Veículo Ford KA FUP2549 Após 20 minutos da Aplicação do Ozônio	1
Limite de Quantificação do Método		1 UFC/25cm²

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.: 18.998-01	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

WIER TECNOLOGIA PLASMA E OZÔNIO LTDA

RELATÓRIO DE ENSAIO N°98355/2020A
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AR

São Paulo, 03 de Junho de 2020.

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

Material: Ar ambiente

Equipamento Teste: OZ PRO

Data da amostragem: 28/05/2020

Data de entrada: 28/05/2020

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	Contagem de Fungos	
		UFC/m ³	% de redução
Ford KA - FUP 2549	Antes da Aplicação do Ozônio	224	0,00%
Ford KA - FUP 2549	10' da Aplicação do Ozônio	44	80,36%
Ford KA - FUP 2549	20' da Aplicação do Ozônio	40	82,14%
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: 18.098-01

Gerente do Laboratório

Paula de Maio Trezza

GRBio: 43.933/01-D



ANALI 095
Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA:
http://www.anvisa.gov.br/reblas/bioanal/analico_095.htm



Controlbio Assessoria Técnica Microbiológica S/S Ltda.

Rua Com. Elias Assi, 645 - Caratinga - 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/rb/br/docs/CRL0545.pdf>
Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br