



WIER
GERADORES DE OZÔNIO

LAUDO TÉCNICO

AÇÃO VIRUCIDA DOS GERADORES DE OZÔNIO WIER

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 VIRUCIDA

VÍRUS TESTADO: Coronavírus/MHS gênero Betacoronavírus (mesmo gênero e família das espécies COVID-19, MERS e SARS-CoV-1).

1. METODOLOGIA

Os ensaios foram realizados em Laboratório NB-2 (Biossegurança Nível 2), seguindo recomendações da ANVISA Art.1 e Art.3 da IN 04/13 e IN 12/16. Os testes foram conduzidos pela professora Dra. Clarice Weis Arns, que assina o laudo e está ligada ao Laboratório de Virologia do Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes do Instituto de Biologia da UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas).

Após transcorrido o tempo de aplicação, as placas que ficaram expostas ao gás ozônio foram recolhidas, inocupadas com células e incubadas a 37 °C em estufa com 5% de CO₂ durante 48 horas, por 5 dias. A avaliação consistiu em verificar a dose infectante para 50% dos Cultivos Celulares [TCID₅₀] por mililitro. O vírus foi expresso com log₁₀ TCID₅₀/ml a partir de método descrito por Reed Muench (1938).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Os vírus são pequenos agentes infecciosos que dependem de células vivas de outros organismos para a sua replicação. Eles são compostos por genoma RNA ou DNA e circundados por uma capa de proteína codificada, chamada de capsídeo. Dos patógenos que infectaram a população humana nas últimas décadas, a maioria tem sido vírus de RNA, incluindo Ebola, SARS, MERS, Zika, vários vírus influenza e atualmente o SARS-CoV-2 (KAMPF, et al. 2020).

Uma das principais formas de transmissão de vírus, em geral, é através de superfícies contaminadas. Sendo assim, garantir um ambiente seguro, ou seja, limpo e desinfetado é essencial (KAMPF, et al. 2020).

Um estudo recente publicado por pesquisadores do Imperial College London, mostrou que o DNA viral deixado na grade de uma cama de hospital, dentro de uma sala de isolamento, se espalhou em apenas dez horas para outras 18 superfícies, incluindo maçanetas de portas, cadeiras de sala de espera, brinquedos infantis e livros em área de recreação. Esse estudo mostra até que ponto um vírus em uma gota de líquido que cai em uma cama pode se espalhar entre pessoas que tocam as superfícies (RAWLINSON, et al. 2020).

Além de fazer a higienização e a desinfecção das superfícies, é de suma importância a desinfecção do ar ambiente. A Organização Mundial da Saúde (OMS) e

outras autoridades de saúde enfatizam que tanto a lavagem das mãos quanto a limpeza e [desinfecção de superfícies tocadas com frequência são essenciais](#) para prevenir a disseminação de vírus.

O ozônio (O₃) é capaz de desinfetar superfícies e o ar ambiente de locais fechados. Ele funciona essencialmente destruindo as moléculas com as quais entra em contato, incluindo moléculas constituintes dos vírus, bactérias e fungos (MURRAY et al. 2008, YOUNG et al. 2020).

O ozônio pode atacar os vírus em vários pontos de sua estrutura (detalhada na Figura 1), causando danos à integridade do vírus, ao mesmo tempo em que os torna incapazes de se reproduzirem por meio da oxidação do capsídeo viral e do material genético. Embora qualquer estrutura do vírus possa ser potencialmente atacada pelo ozônio, a estrutura que possui a maioria das ligações duplas ou grupos com alta densidade eletrônica será mais vulnerável à oxidação do ozônio (TIZAOUI, 2020).

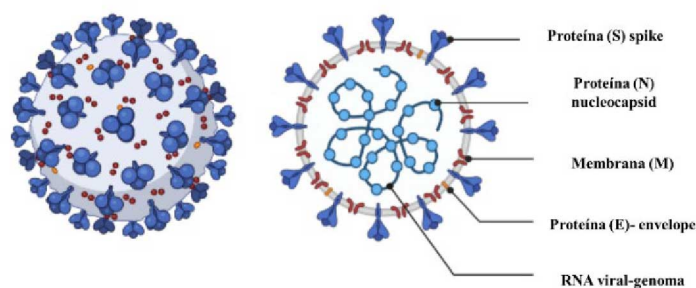


Figura 1 - Estrutura do Coronavírus¹

3. RESULTADOS

Foram realizados dois ensaios para comprovar a eficiência dos geradores de ozônio da WIER na ação virucida:

Ensaio 1: Aplicação de gás ozônio produzido pelo gerador OZmini ligado durante 30 minutos e desligado por mais 10 minutos.

Ensaio 2: Aplicação de gás ozônio produzido pelo gerador OZpro ligado durante 15 minutos e desligado por mais 10 minutos.

¹ Reprinted from "Human Coronavirus Structure", by Biorender. Disponível em: <<https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/5e99f5395fd61e0028682c01/t-5f21e90283765600b08fbe9d-human-coronavirus-structure>> Acesso em set. 2020.

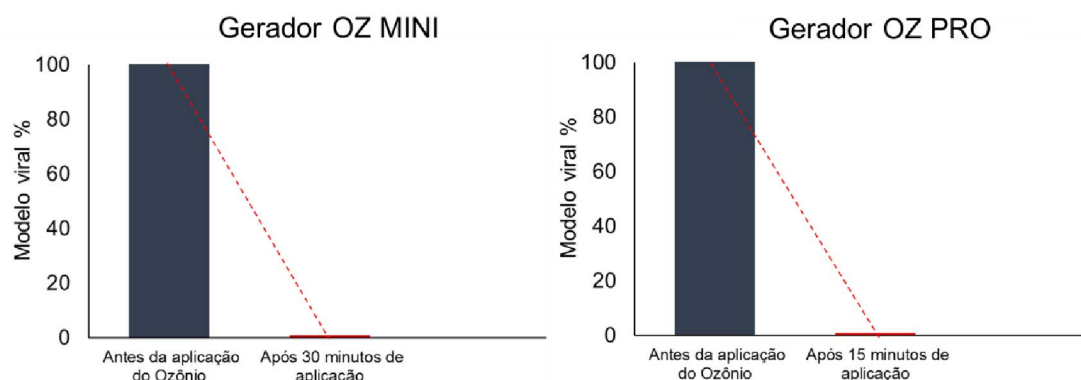


Figura 2 - Percentual de inativação viral em comparação com o controle viral não tratado com ozônio.

Os resultados obtidos demonstram que a produção do gás ozônio pelos equipamentos OZmini e OZpro em ambiente fechado e aplicado em diferentes tempos, **inativaram em 99,99%** o Coronavírus/MHS gênero Betacoronavirus (mesmo gênero e família das espécies COVID-19 e SARS-CoV-1), conforme os gráficos da Figura 2.

Esses resultados evidenciam o potencial virucida (capacidade de inativar vírus) dos geradores de ozônio da WIER.

REFERÊNCIAS

AKEY, DAVID H.; WALTON, THOMAS E. **Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus**. Applied and environmental microbiology, v. 50, n. 4, p. 882-886, 1985.

DENNIS, Robert et al. **Ozone Gas: Scientific Justification and Practical Guidelines for Improved Disinfection using Consumer-Grade Ozone Generators and Plastic Storage Boxes**. The Journal of Science and Medicine, v. 2, n. 1, 2020.

ESLAMI, Hadi; JALILI, Mahrokh. **The role of environmental factors to transmission of SARS-CoV-2 (COVID-19)**. AMB Express, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2020.

HIRAI, Kazuyuki et al. **Investigation of the Effective Concentration of Ozonated Water for Disinfection in the Presence of Protein Contaminants**. Biocontrol science, v. 24, n. 3, p. 155-160, 2019.

KAI-WANG, K., et al. **COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing.** Clinical Infectious Diseases, 1-25 (2020).

KAMPF, Günter, et al. **Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents.** Journal of Hospital Infection, 104.3: 246-251, 2020.

MURRAY, Byron K. et al. **Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species.** Journal of virological methods, v. 153, n. 1, p. 74-77, 2008.

LA ROSA, Giuseppina et al. **Viral infections acquired indoors through airborne, droplet or contact transmission.** Annali dell'Istituto superiore di sanita, v. 49, p. 124-132, 2013.

PRATHER, Kimberly A.; WANG, Chia C.; SCHOOLEY, Robert T. **Reducing transmission of SARS-CoV-2.** Science, 2020.

RAWLINSON, Stacey; CIRIC, L.; CLOUTMAN-GREEN, E. **COVID-19 pandemic—let's not forget surfaces.** Journal of Hospital Infection, v. 105, n. 4, p. 790-791, 2020.

TIZAOUI, Chedly. **Ozone: A Potential Oxidant for COVID-19 Virus (SARS-CoV-2).** Ozone: Science & Engineering, v. 42, n. 5, p. 378-385, 2020.

VAN DOREMALEN, Neeltje et al. **Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1.** New England Journal of Medicine, v. 382, n. 16, p. 1564-1567, 2020.

YOUNG, Suzanne et al. **Relationship Between Inactivation and Genome Damage of Human Enteroviruses Upon Treatment by UV 254, Free Chlorine, and Ozone.** Food and Environmental Virology, v. 12, n. 1, p. 20-27, 2020.

ZANARDI, I. et al. **Ozone: a multifaceted molecule with unexpected therapeutic activity.** Current Medicinal Chemistry, v. 23, n. 4, p. 304-314, 2016.



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 04 de julho 2020

Ao Sr.
Dr. Bruno Mena Cadorin
CEO WIER
www.wier.com.br

LAUDO VIRUCIDA GERADOR de OZÔNIO

Prezado Sr Bruno,

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

1) Produtos:

- Teste 1: aplicação de gás ozônio produzido com o gerador OZmini ligado durante 30 minutos e desligado por mais 10 minutos.
- Teste 2: aplicação de gás ozônio produzido com o gerador OZpro ligado durante 15 minutos e desligado por mais 10 minutos.

Condições do Teste:

Condições do ambiente: temperatura: 23,33 °C

Umidade relativa do ar: 59,63 %

Gerador de Gás ozônio em Ambiente Fechado de 150 cm³

2) Dados Cadastrais:

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

- 3) **Vírus testados:** CORONAVÍRUS/MHV gênero Betacoronavirus (mesmo gênero e família das espécies COVID-19, MERS e SARS-CoV-1).

4) 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", 04 de julho 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 substância teste (gás ozônio) deve ser ativa somente contra o vírus e não às células.
 - Ensaio positivo: presença do vírus, gás ozônio e sistema celular;
 - Negativo: controle de células (apenas sistema celular, sem a presença de vírus e sem a presença de gás ozônio);
 - Controle da diluição/titulação dos vírus e cultivo celular.
 - A produção de gás ozônio foi produzido pelos equipamentos OZmini e OZpro. O ensaio foi aplicado dentro de um Ambiente Fechado de 150 cm³, na qual foram distribuídas Placas de Petri estéril (Ø 90mm x 15mm) com os vírus e submetidas a diferentes tempos.
 - O equipamento OZmini ficou ligado durante 30 minutos e desligado por mais 10 minutos. O gerador OZpro ficou ligado durante 15 minutos e desligado por mais 10 minutos
- c) Após transcorrido os tempos, placas expostas ao gás ozônio foram recolhidas, inoculadas com as células e incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 hs a 05 dias.
- d) O título dos vírus foi expresso como log₁₀TCID₅₀/ml a partir do método Reed-Muench (1938).

5) Resultados:

Tabela 1: Produção gás ozônio Equipamentos OZmini e OZpro em Ambiente Fechado de (150 cm³) e aplicado em diferentes tempos sobre Coronavírus cepa MHV-3

Gerador Ozônio/Tempo	Resultados* Coronavírus MHV-3
OZmini ligado durante 30 minutos e desligado por mais 10 minutos	Virucida*
OZpro ligado durante 15 minutos e desligado por mais 10 minutos	Virucida

* Virucida: ocorreu inativação de 99,99% dos vírus

***Tabela 2 -** 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% VIRUCIDA
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", 04 de julho 2020

6) Conclusões:

Gás Ozônio Aparelhos OZmini e OZpro:

- OZmini ligado durante 30 minutos e desligado por mais 10 minutos inibiu 99,99% o vírus testado;
- OZpro ligado durante 15 minutos e desligado por mais 10 minutos inibiu 99.99% o vírus testado;
- Portanto, recomendamos o uso do gás ozônio produzido pelos equipamentos OZmini e OZpro em Ambiente Fechado como potencial agente virucida para o grupo Coronavírus.

Atenciosamente,

Prof.ª Dr.ª Clarice Weis Arns
Responsável pelo Laudo

Prof.ª Dr.ª Clarice Weis Arns
Laboratório de Virologia
Dpto. Genética, Evolução e Bioagentes
Instituto de Biologia - UNICAMP
13083-970 - Campinas - SP



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 04 de julho 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.