



WIER
GERADORES DE OZÔNIO

LAUDO TÉCNICO

HOTEL E MOTEL

GERADOR DE OZÔNIO *OZplus*

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 OZplus

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 do 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 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 uma suíte de motel na cidade de São Paulo (SP) para verificar a eficiência do gerador de ozônio **OZplus** 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 **OZplus**.

Os resultados mostram uma redução no número de unidades formadoras de colônias (UFC) para bactérias e fungos totais após a aplicação do gerador de ozônio, conforme mostra a Tabela 1.

Houve uma redução de 95% na carga microbiana de bactérias totais presentes nas superfícies após 60 minutos de aplicação do gerador de ozônio, com uma diminuição de 40 UFC/25cm² para 2 UFC/25cm².

Para fungos totais também houve uma inativação de 84% no número de colônias após 60 minutos de aplicação, reduzindo de 32 UFC/25cm² para 5 UFC/25cm².

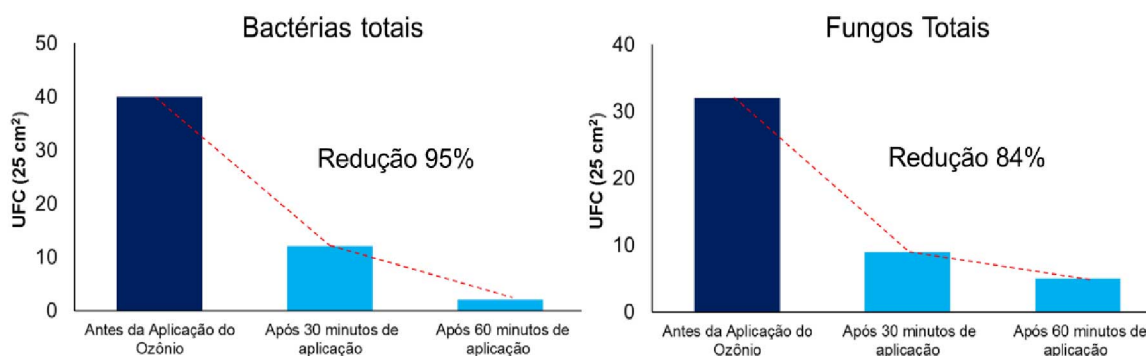


Tabela 1 - Metodologia RODAC® para análise de superfícies com o uso do equipamento OZplus

Os testes de ar ambiente foram realizados pelo método de sedimentação, que consiste em expor placas de Petri contendo os meios de cultura dentro da suíte do motel de forma que as partículas dispersas no ar sofram sedimentação forçada, através da sucção pelo aparelho coletor M Air T®. Desta forma, uma amostragem do ar ambiente antes da aplicação do ozônio (ponto zero) foi realizada e também após 30 e 60 minutos de aplicação do gerador **OZplus**.

Conforme exposto no gráfico da Tabela 2, houve uma redução de 95% da carga microbiológica presente no ar do quarto de motel, uma diminuição de 248 UFC/m³ para 12 UFC/m³ após 60 minutos de uso do equipamento.

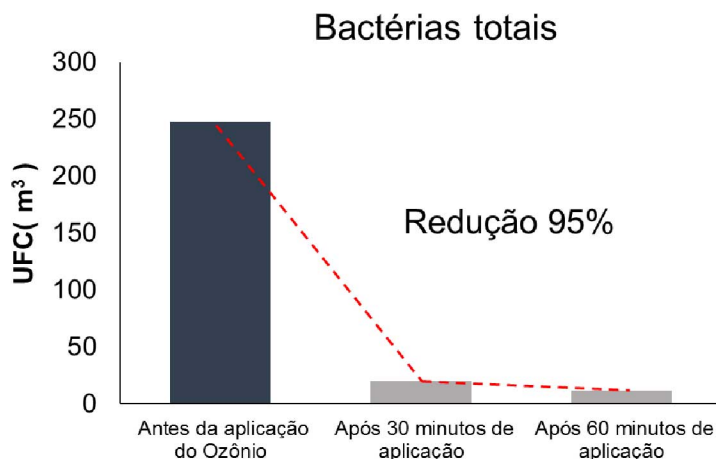


Tabela 2 - Análise de Ar ambiente com uso do equipamento OZ PLUS

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 **OZplus** 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.

KLINE, 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.



RELATÓRIO DE ENSAIO N°98315/2020A
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO AR



Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

ANALI 095

Veja o escopo no site do ANVISA:

http://www.anvisa.gov.br/relat/bioanal/analico_095.htm

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 | Localidade: Harmony Motel | Equipamento Teste: OZ PLUS

Data da amostragem: 29/05/2020 | Hora da entrada: 19 | 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 Bactérias	
		UFC/m ³	% de redução
Suíte 17	Antes da Aplicação do Ozônio	248	0,00%
Suíte 17	30' da Aplicação do Ozônio	20	91,94%
Suíte 17	60' da Aplicação do Ozônio	12	95,16%
Limite de Quantificação do método		1 UFC/m ³	

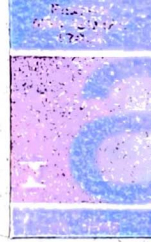
Metodologia: U.S. PHARMACOPEIA/ NATIONAL FORMULARY - USP 40/INF 35, 2017; Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia da Qualidade para Sistemas de Tratamento de Ar e Monitoramento Ambiental na Indústria Farmacêutica, 2013; Organização Mundial de Saúde "WHO Technical Report Series, No. 951, 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: 18.938.01

Gerente de Laboratório
 Paulo 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 pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob número CRL 0545, escopo disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rbe/docs/CRL0545.pdf>
 Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br



**RELATÓRIO DE ENSAIO Nº98311/2020A
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 PLUS	
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 98311/01	Harmony Motel Suíte 17 Antes da Aplicação do Ozônio	40	32
OS 98311/02	Harmony Motel Suíte 17 Após 30 minutos da Aplicação do Ozônio	12	9
OS 98311/03	Harmony Motel Suíte 17 Após 60 minutos da Aplicação do Ozônio	2	5
Limite de Quantificação do Método		1UFC/25cm²	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.: 18.098-01	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