



WIER
GERADORES DE OZÔNIO

LAUDO TÉCNICO

VEÍCULOS

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: 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 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 um veículo de passeio (modelo Ford KA, placa FXW9647) para verificar a eficiência do gerador de ozônio **OZplus** na desinfecção das superfícies pelo método do RODAC®.

Primeiramente, foi feita uma amostragem da superfície antes da aplicação do ozônio (ponto zero) sobre o painel da frente do veículo, após 15 minutos de aplicação sobre o assento do banco do motorista e após 30 minutos de aplicação sobre o painel do lado do passageiro.

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 a Tabela 1.

Houve uma redução de 90% na carga de bactérias totais após 30 minutos de aplicação do gerador de ozônio, com diminuição de 127 UFC/25cm² para 12

UFC/25cm². Para fungos totais, houve uma redução de 97% no número de colônias, de 32 UFC/25cm² para 1 UFC/25cm², também com 30 minutos de aplicação do gerador de ozônio.

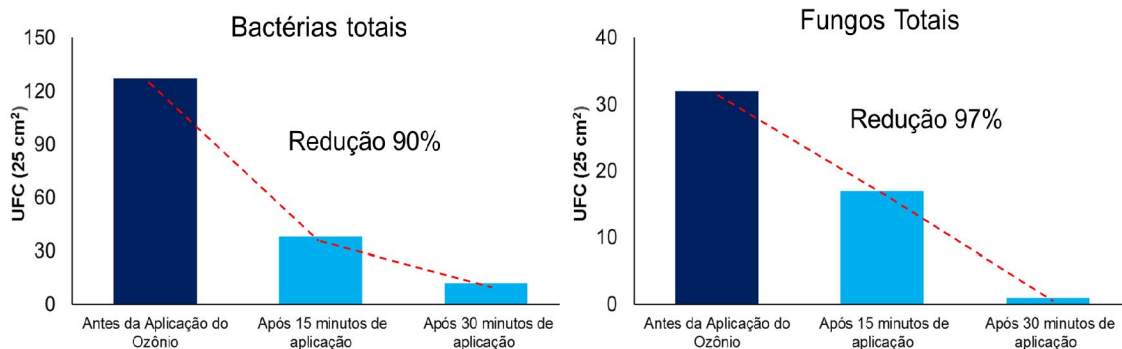


Tabela 1 - Metodologia contato RODAC[®] para análise de superfícies com uso do equipamento OZplus

O ar é primordialmente um portador de matéria particulada, pó e gotículas que podem estar carregadas com microrganismos. Os testes de ar ambiente do interior do veículo foram realizados pelo método de sedimentação, que consiste em expor placas de Petri contendo os meios de cultura, dentro do veículo de passeio (modelo Ford KA, placa FXW9647) de forma que as partículas dispersas no ar sofram sedimentação forçada, através da sucção pelo aparelho coletor M Air T[®].

Desta forma, foi realizada uma amostragem do ar ambiente antes da aplicação do ozônio (ponto zero), e também após 15 minutos e 30 minutos de aplicação com o uso do gerador **OZplus**. Os resultados para ar ambiente mostram uma redução na contagem de microrganismos (UFC) para bactérias e fungos totais após a aplicação do gerador de ozônio.

Na Tabela 2, observa-se uma redução de 91% em média, após 30 minutos da aplicação do gerador de ozônio, com diminuição de 92 UFC/m³ para 8 UFC/m³ para bactérias totais e de 180 UFC/m³ para 16 UFC/m³ para fungos totais. Esses dados, demonstram o efeito antibacteriano e antifúngico do gás ozônio para contaminantes presentes no ar ambiente.

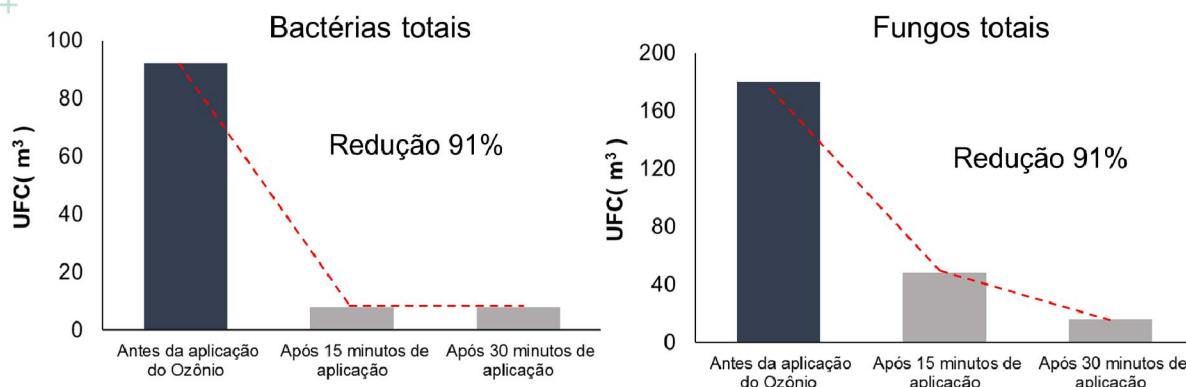


Tabela 2 - Análise do ar ambiente no interior de veículo com uso do equipamento OZplus

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 **OZplus** 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.

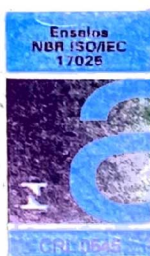
VARTOUKIAN, Sonia R.; PALMER, Richard M.; WADE, William G. **Strategies for culture of 'unculturable' bacteria**. FEMS microbiology letters, v. 309, n. 1, p. 1-7, 2010.

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 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.





ANAL 095

Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA

http://www.anvisa.gov.br/reblas/bio/enal/anal/bio3_C95.html**RELATÓRIO DE ENSAIO Nº98308/2020A
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: 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 bactérias UFC/25cm ²	Pesquisa de fungos UFC/25cm ²
OS 98308/01	Painel - frente do Rádio Veículo Ford KA FXW9647 Antes da Aplicação do Ozônio	127	32
OS 98308/02	Assento do Banco do Motorista Veículo Ford KA FXW9647 Após 15 minutos da Aplicação do Ozônio	38	17
OS 98308/03	Painel lado do Passageiro Veículo Ford KA FXW9647 Após 30 minutos da Aplicação do Ozônio	12	1
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.: 16.098-01	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



ANALI 095
Laboratório Analítico Habilitado pela ANVISA

Veja o escopo no site da ANVISA:
http://www.anvisa.gov.br/reblas/bioanalitico_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: Veículo | Equipamento Teste: OZ PLUS

Data da amostragem: 28/05/2020 | Data de entrada: 28/05/2020 | Hora da entrada: 16:00 | Responsável pela amostragem: Controlbio

Método de amostragem: Impacção 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	AERÓBIOS TOTAIS			
		Bactérias		Fungos	
		UFC/m3	% de redução	UFC/m3	% de redução
Ford KA - FXW9647	Antes da Aplicação do Ozônio	92	0,00%	180	0,00%
Ford KA - FXW9647	15' da Aplicação do Ozônio	8	91,30%	48	73,33%
Ford KA - FXW9647	30' da Aplicação do Ozônio	8	91,30%	16	91,11%
Limite de Quantificação do método 1 UFC/m ³					

Metodologia: U.S. PHARMACOPEDIA/ 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- anex 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: 18.056-01

Gerente de Laboratório
 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/rbde/docs/CRL0545.pdf>
 Visualize os ensaios habilitados na ANVISA/REBLAS em www.controlbio.com.br