EFFETTO DELL'OZONO SUI VIRUS CORONA

Rapporto di prova (SN 29606, 2020-1004) di HygCen Germany GmbH con spiegazioni e pareri di esperti

Il team di OZONOS GmbH sarà lieto di rispondere alle v o s t r e domande:

OZONOS GmbH
Ginzkeyplatz 11
A - 5020 Salisburgo

T: +43 (662) 238 288 0
F: +43 (662) 238 288 99
E: frischluft@ozonos.com

Informazioni e spiegazioni sul rapporto di prova (SN 29606, 2020-1004)

di HygCen Germany GmbH
Effetto di OZONOS sui coronavirus

Contesto dell'audit

Per questo motivo, HygCen Germany GmbH è stata scelta da OZONOS GmbH per il test.

La routine di test standard di HygCen Germany GmbH determina se il processo in esame raggiunge o meno la disinfezione per l'agente patogeno in esame (batteri, virus, spore, funghi). La disinfezione è la riduzione degli agenti patogeni a un numero tale che non ci si ammala più. Nel caso dei virus, il termine disinfezione viene solitamente utilizzato quando almeno il 99,99% dei virus è inattivato. In termini tecnici, si parla anche di "riduzione di 4 livelli log10". In senso figurato, ciò significa che dopo la disinfezione solo un virus su 10.000 h a mantenuto le sue proprietà patogene.

Nei prodotti OZONOS, l'effetto virucida deriva dalla radiazione UV-C e dall'ozono prodotto. All'esterno del dispositivo, cioè nell'aria della stanza e sulle superfici (mobili, pavimenti, pareti, ecc.), ha effetto solo l'ozono emesso. HygCen Germany GmbH ha testato l'effetto virucida sui coronavirus bovini presenti sulle superfici *utilizzando procedure automatizzate* basate sulla norma *EN 17272 - Test quantitativo dei vettori germinali per la disinfezione degli ambienti per via aerea.* Questa procedura è lo standard per dimostrare l'efficacia virucida delle procedure. Secondo HygCen Germany GmbH, non esiste un set-up di test adeguato e affidabile per l'efficacia sui virus presenti nell'aria, ad esempio i virus presenti nelle goccioline di saliva (tosse, starnuti). Tuttavia, secondo HygCen Germany GmbH, questo non è rilevante in quanto le goccioline scendono a terra in tempi relativamente brevi e i virus si depositano sulle superfici. In base a una richiesta telefonica, HygCen Germany GmbH ha anche effettuato i propri test a questo proposito. Questo fatto si riflette anche nelle raccomandazioni delle autorità che prevedono di mantenere una distanza minima di 1 metro nei locali chiusi. A causa della maggiore concentrazione di ozono nell'apparecchio e delle radiazioni UV-C, la temperatura dell'aria è molto bassa.

In generale, si può ipotizzare una maggiore efficacia virucida sull'aria aspirata.

Risultato dell'audit

A causa dei regolamenti dell'istituto di prova, il test di Hyg-Cen Germany GmbH si è concentrato sulla prova dell'effetto disinfettante. La riduzione del 99,99% dei coronavirus richiesta a tal fine non è stata raggiunta con OZONOS AC-1 Pro nella stanza da 73,44 m³ dopo 24 ore di funzionamento continuo (terza frase delle conclusioni, pagina 7). Dopo 24 ore, è stata confermata una riduzione dei coronavirus di circa il 90% (seconda serie di conclusioni, pagina 7).

Spiegazione del rapporto di prova

1. I prodotti OZONOS non sono stati concepiti come "metodo di disinfezione medica" in senso stretto. Una riduzione del 99,99% è auspicabile, ma non è realistica nella configurazione di prova selezionata (dimensioni della stanza, concentrazione di ozono, ecc.). Lo scopo del test era dimostrare l'efficacia dell'ozono sui coronavirus in concentrazioni "ragionevoli" da parte di un istituto di prova accreditato e indipendente. La procedura e i risultati di OZONOS GmbH soddisfano questo requisito.
2. Il risultato dimostra l'efficacia contro i coronavirus anche a basse concentrazioni. È quindi opportuno utilizzare i prodotti OZONOS per la pulizia intensiva.

Cosa significa questo per l'utilizzo dei prodotti OZONOS?

Il set-up di prova con una stanza di 73,44 m³ (circa 30 m²) rappresenta un limite superiore per l'uso tipico (domestico) dei prodotti OZONOS. In realtà, OZONOS funzionerà in condizioni più favorevoli durante la pulizia intensiva. Per valutare la sicurezza, sono stati eseguiti ulteriori calcoli sul modello. Il risultato è stato una concentrazione di ozono compresa tra 0,05 ppm e 0,06 ppm nella stanza di prova. Rispetto alle concentrazioni di ozono di solito superiori a 1 ppm, che si verificano durante la disinfezione con i generatori di ozono, questa concentrazione è ovviamente molto più bassa! OZONOS può quindi essere utilizzato per garantire un funzionamento sicuro per l'uomo e per gli animali, pur ottenendo l'effetto desiderato, a condizione che vengano rispettate alcune regole.

Dr. Richard Brunauer
2020.05.19 1.1

Hauptsitz
Prüfinstitut
HygCen Germany GmbH
Bornhövedstrasse 78
19055 Schwerin

Phone: +49 (0) 385 5682 65
Fax: +49 (0) 385 5983 74
Email: info@hygcen.de
Web: www.hygcen.de

[HYGCEN GERMANY GMBH | BORNHÖVEDSTRASSE 78 | 19055 SCHWERIN]

OZONOS GmbH
Friedensstraße 2-6
A - 5020 Salisburgo

2020-05-12

PROFORTO/*TES* *TREPORTO*

Probennummer / *numero di identificazione del campione:*	SN 29606
Prüfungsnummer / *numero di prova:*	2020-1004
Prüfprodukt / *campione di prova:*	OZONOS AC-PRO
Auftraggeber / *cliente*:	OZONOS GmbH
Auftragsdatum / *data dell'ordine*:	2020-04-10
Prüfzeitraum / *periodo di prova*:	2020-04-23 - 2020-04-27
Prüfmethode / *metodo di prova:*	EN 17272 - Test microbici quantitativi per la disinfezione degli ambienti mediante metodi automatizzati - Determinazione dell'attività battericida, fungicida, lieviticida, sporicida, tubercolocida, micobattericida, virucida e fagica nelle aree umane, veterinarie, alimentari, industriali, domestiche e pubbliche - Metodi di prova e requisiti *Metodi di disinfezione dell'aria mediante processo automatizzato - determinazione delle attività battericida, lieviticida, fungicida, sporicida, micobattericida e virucida*, SOP 02-059
Informazioni / *informazioni:*	Procedura di test modificata con *coronavirus bovino* / *test modificato con Coronavirus bovino* *Condizioni di* basso carico */ pulizia Test di screening / test di screening*

Geschäftsführung: Dr. med. univ. Sebastian Werner | Amtsgericht Schwerin HRB 4792 | UST.-Nr.: DE 178 599 849 | Steuer-Nr.: 090 / 110 / 03882
VR-Bank Schwerin: IBAN DE69 1409 1464 0000 0560 14 BIC GENODEF1SN1 | Deutsche Apotheker- und Ärztebank Schwerin: IBAN DE50 3006 0601 0005 5786 98 BIC DAAEDEDD

Identificazione della sonda / *identificazione del campione*

Prüfprodukt / *campione di prova:*	OZONOS AC-PRO
Probennummer / *numero di identificazione del campione:*	SN 29606
Lieferdatum / *data di consegna*:	2020-04-17

Prüfverfahrenbeschreibung / *descrizione del metodo di prova*

Prüfmethode / *metodo di prova:*	EN 17272 - Test microbici quantitativi per la disinfezione degli ambienti mediante metodi automatizzati - Determinazione dell'attività battericida, fungicida, lieviticida, sporicida, tubercolocida, micobattericida, virucida e fagica nelle aree umane, veterinarie, alimentari, industriali, domestiche e pubbliche - Metodi di prova e requisiti *EN 17272 - Metodi di disinfezione dell'aria mediante processo automatizzato - determinazione di battericidi, lieviticidi, fungicidi, sporicidi, micobattericidi e attività virucida*, SOP 02-059

Fig. 1 / *Fig. 1:* Dispositivo di prova nella sala prove (73,44 m³) / *dispositivo testato nella sala prove (73,44 m³)*

Prüfverfahrenbeschreibung / *descrizione del metodo di prova*

Temperatura(e) di prova / *temperatura di prova*:	20°C ± 1°C	
Sostanza/e di carico / *sostanze interferenti*:	*condizioni di* basso *carico/pulizia*: 0,3g/l di *sieroalbumina* bovina / *0,3g/l di sieroalbumina bovina*	
Organismo/i di prova:	Bovines Coronavirus BCoV / *Bovine Corona virus*	RVB-003
	Passage Nr. */ passage no:*	P1
Linea cellulare per la propagazione / *linea cellulare per la replicazione:*	*PT-cellule* / *PT-cellule*	CCLV-RIE 11
Metodo di titolazione / *metodo di titolazione:*	Titolazione del virus su cellule come monostrato in piastre da microtitolazione da 96 pozzetti. 0,5 ml di soluzione di prova del prodotto sono stati diluiti con 4,5 ml di DMEM freddo + 2% TCS fino a una diluizione di 10^{-8} . 100µl di *ciascuna diluizione sono stati pipettati in 8 pozzetti della piastra da microtitolazione. / titolazione del virus su cellule come monostrato in piastre da microtitolazione a 96 pozzetti. 0,5ml di soluzione di prova del campione sono stati diluiti con 4,5ml di DMEM freddo con 2% FCS fino a una diluizione di 10^{-8} .100µl di ciascuna diluizione sono stati pipettati in 8 pozzetti della piastra da microtitolazione.*	
Einwirkzeit(en) / *tempo di contatto*:	24h	
Temperatura di incubazione / *temperatura di incubazione*:	36°C	
Verfahren zur Beendigung der Wirkung des Produktes und / *procedura per interrompere l'azione del campione:*	Diluizione fino a 10^{-4} entro 10 secondi con DMEM raffreddato con ghiaccio + 2% FBS / *Diluizione fino a 10^{-4} entro 10 secondi con DMEM freddo + 2% FBS*	

Procedura di prova

100 µl dell'inoculo virale sono stati pipettati al centro di ciascun disco di prova e sono stati essiccati nel banco a flusso laminare fino all'essiccazione visibile. Il tempo massimo di essiccazione è stato di 60 minuti. I dischi sono stati utilizzati entro 2 ore dalla fine del tempo di essiccazione.

Tre campioni di prova sono stati sospesi al centro della stanza. Il lato contaminato era rivolto verso il dispositivo di prova.

Dopo il tempo di esposizione di 24 ore, i campioni sono stati eluiti in 5 ml di DMEM freddo per 10 minuti su un agitatore circolare e quindi diluiti a 10^{-8} in DMEM freddo + 2% TCS. A ciò ha fatto seguito la titolazione sulla coltura cellulare.

A tal fine, i campioni sono stati diluiti in potenze intere di 10 in terreno freddo a 4°C (DMEM con 2% TCS). 100 µl di ciascuna diluizione sono stati aggiunti a 8 pozzetti di una piastra da microtitolazione a 96 pozzetti. Il test è stato eseguito in doppio.

Dopo un'incubazione di 2-4 giorni a 37°C in un incubatore a CO_2, gli effetti citopatogeni sono stati letti con un microscopio invertito.

100µl di inoculo virale sono stati pipettati al centro di ciascun disco di prova e asciugati fino a essiccazione visibile nel banco a flusso laminare. Il tempo massimo di essiccazione è stato di 60 minuti. I supporti sono stati utilizzati entro 2 ore dal termine dell'essiccazione. Tre campioni di prova sono stati appesi al centro della stanza. Il lato contaminato era rivolto verso il dispositivo di prova.

Dopo il tempo di esposizione di 24 ore, i campioni in esame sono stati eluiti in 5 ml di DMEM freddo per 10 minuti su un agitatore da laboratorio. Sono state effettuate diluizioni seriali fino a 10^{-8} in DMEM freddo + 2% FBS. Quindi è stata eseguita la titolazione nella coltura cellulare.

Ogni 100 µl di una diluizione è stato aggiunto a 8 pozzetti di una piastra da microtitolazione a 96 pozzetti. Il test è stato eseguito in duplice copia.
Dopo un'incubazione di 2-4 giorni a 37°C in un incubatore a CO_2, gli effetti citopatogeni sono stati letti al microscopio invertito.

Berechnung der viruziden Wirksamkeit / *calcolo dell'attività virucida*

La $_{TCID50}$ è stata calcolata secondo il metodo di Spearman e Kärber /
La $_{TCID50}$ è stata calcolata secondo il metodo di Spearman e Kärber

$$m = {}_{xk} + d / 2 - d \sum {}_{pi}$$

m = NegativerDekadischer Logarithmus des Titers auf Basis *des Prüfvolumens* / *logaritmo decimale negativo del titolo basato sul volume del test*

$_{xk}$ = logaritmo del dosaggio più basso (livello di diluizione) al quale tutti gli oggetti in esame danno una reazione positiva / *logaritmo della dose più bassa (livello di diluizione) alla quale tutti gli oggetti in esame mostrano una reazione positiva*

d =Logaritmo del fattore di diluizione / *logaritmo del fattore di diluizione*

$_{pi}$ =Beobachtete Reaktionrate / *velocità di reazione osservata*

Berechnung der Reduktion / *calcolo della riduzione*

$$_{RT1} = a - b$$

$_{RT1}$ =Reduzione del primo test / *riduzione del primo test*

a =lg TCID50/ml della titolazione di controllo della prima *prova* / *lg TCID50/ml della titolazione di controllo della prima prova*

b =lg TCID50/ml della titolazione del "*virus* a riposo" della prima *prova* / *lg TCID50/ml della titolazione del "virus a riposo" della prima prova*

Ergebnisse Bovines Coronavirus / *risultati del test Bovine Coronavirus*

Tabelle 1 / tabella 1: Zusammenfassung der Ergebnisse von Bovinem Coronavirus */ sintesi dei risultati con il Coronavirus bovino*

Concentrazione del prodotto / *concentrazione del campione di prova*	Carico / *sostanza interferente*	CD50	Disco n. / *vettore n.*	lg-TCID50 a ...	Reduktionsfaktor nach... / *fattore di riduzione dopo...*
				24h	24h
OZONOS AC-PRO	0,3 g/l BSA	≤ 1.50	1	4.00	1.42
			2	4.50	0.92
			3	4.00	1.42
Controllo dei virus / *controllo dei virus*	0,3 g/l BSA	n.d.	1	5.13	n.d.
			2	5.63	n.d.
			3	5.50	n.d.

TCID50	Dose infettiva per coltura tissutale
CD50	Zytotoxische Dosis / *dose citotossica*
n.a.	nicht anwendbar / *non applicabile*
n.d.	nicht durchgeführt / *non fatto*
	BSARinderserumalbumina / *sieroalbumina bovina*

Schlussfolgerung */ conclusione*:

Dopo un'esposizione di 24 ore con il dispositivo di test OZONOS AC-PRO a basso carico, è stato possibile rilevare una moltiplicazione del coronavirus bovino nelle colture di cellule PT.

La riduzione media del titolo rilevata è di 1,25lg. Ciò corrisponde a una riduzione di circa il 90% del virus.

Non è stato possibile dimostrare la necessaria riduzione dei livelli di ≥ 4lg.

Dopo un'esposizione di 24 ore con il dispositivo di analisi OZONOS AC-PRO in condizioni di pulizia, è stato possibile rilevare la replicazione del Coronavirus bovino nelle colture di cellule PT.

La riduzione media del titolo è di 1,25 lg. Ciò corrisponde a una riduzione di circa il 90% del virus.

Non è stato possibile dimostrare la riduzione del titolo richiesta di ≥ 4lg unità.

Archiviazione: **Una copia del rapporto viene conservata nell'archivio del contraente insieme ai dati grezzi.**

archiviazione: ***Una copia del rapporto di prova sarà conservata insieme ai dati grezzi nell'archivio del contraente.***

Nota: I risultati dei test si riferiscono esclusivamente ai prodotti di prova citati. Gli estratti di questo rapporto possono essere riprodotti solo con l'autorizzazione scritta di HygCen Germany GmbH.

nota: *I risultati dei test si riferiscono solo ai campioni di prova indicati. La riproduzione di qualsiasi parte del presente rapporto richiede l'autorizzazione scritta di HygCen Germany GmbH.*

Dr. med. univ. S. WernerDipl
Responsabile degli affari tecnico-scientifici
della divisioneMetodi di prova microbiologici

. Umweltwiss. J. Köhnlein
Responsabile

PD Dr rer. nat. Dr med. habil. Friedrich von Rheinbaben
Virologia, microbiologia, igiene

Friedrich von Rheinbaben - Garather Weg 21 -
40589 Monheim am Rhein

Garather Weg 21
40589 Monheim am Rhein

Telefono: +49 (0)171 6767 009
E-mail: f.v.rheinbaben@t-online.de

A
OZONOS GmbH
Friedensstraße 2-6
A - 5020 Salisburgo

Monheim, 25 maggio 2020

Opinione degli esperti

Effetto del prodotto
Ozonos AC-PRO di Ozonos GmbH, Salisburgo, Austria
contro il coronavirus bovino (BCoV)

Dopo aver testato il prodotto **Ozonos AC-PRO** della società Ozonos GmbH nel laboratorio di prova HygCen Germany GmbH in conformità con la norma EN 17272, Test quantitativo del vettore di germi per la disinfezione degli ambienti mediante metodi automatizzati, cfr. rapporto di prova PB 2020-1004, SN 29606 del 12 maggio 2020, esprimo la seguente valutazione:

Il prodotto Ozonos AC-PRO è stato testato contro il coronavirus bovino (BCoV).

L'effetto di questo dispositivo si basa sul rilascio di ozono. È stato utilizzato in una stanza di prova con un volume di ~73,5m3 per un periodo di 24 ore.

La procedura di prova si è basata sulla norma EN 17272, ma con soli 3 campioni di prova, che sono stati sospesi verticalmente a un'altezza di 1,2 metri e a una distanza di 2 metri dall'apparecchio in funzione, in modo che le superfici contaminate dal virus fossero rivolte verso l'apparecchio. Lo sporco aggiuntivo del test sui portatori di germi corrispondeva a un basso carico di 0,3 g/l di sieroalbumina bovina.

I risultati hanno mostrato una riduzione media del titolo del virus di 1,25 ordini di grandezza rispetto al controllo non trattato (tasso di recupero medio di 3 portatori, livelli di RF ~1,25lg).

PD Dr rer. nat. Dr med. habil. Friedrich von Rheinbaben