



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112012000384-4 B1

(22) Data do Depósito: 05/07/2010

(45) Data de Concessão: 17/07/2018



(54) Título: PROCESSO E SISTEMA DE DESINFECÇÃO DE INSTALAÇÃO DESTINADA AOS CUIDADOS COM A SAÚDE COM MISTURA DE OXIGÊNIO/OZÔNIO

(51) Int.Cl.: A61L 2/20

(30) Prioridade Unionista: 06/07/2009 US 61/223,219, 18/01/2010 US 61/295,851

(73) Titular(es): MEDIZONE INTERNATIONAL INC.

(72) Inventor(es): MICHAEL EDWARD SHANNON; DICK ERIC ZOUTMAN

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"PROCESSO E SISTEMA DE DESINFECÇÃO DE INSTALAÇÃO DESTINADA AOS CUIDADOS COM A SAÚDE COM MISTURA DE OXIGÊNIO/OZÔNIO"**.

CAMPO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção refere-se a sistemas de desinfecção para uso em instalações destinadas aos cuidados com a saúde, instalações de saúde pública e outras similares, para eliminar ou pelo menos reduzir a níveis aceitáveis, resíduos microbianos que sejam resistentes aos sistemas desinfetantes e esterilizantes convencionais.

10 ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A despeito dos intensivos esforços preventivos nos últimos anos em hospitais e demais instalações destinadas aos cuidados com a saúde, a incidência de infecções que ameaçam a vida causada por um conjunto crescente de bactérias resistentes a antibióticos (por vezes chamadas "superbugs") tem crescido significativamente e agora está impondo um grave problema às equipes médicas em nível mundial. De acordo com um editorial no periódico "Science" (Julho de 2008), o número de mortes em 2006 imputável a infecções bacterianas em instalações destinadas aos cuidados com a saúde nos Estados Unidos superou a taxa de mortes nos Estados Unidos atribuída ao HIV/AIDS no mesmo ano, e provavelmente resulta em até 70.000 mortes por ano nos Estados Unidos. Tudo isso apesar do esforço máximo dos funcionários da saúde em limpar adequadamente suas instalações e o equipamento contido em tais instalações.

Os principais agentes causadas (bactérias) de infecções hospitalares (infecções nosocomiais) são *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA); e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE).

Aproximadamente 5% de todas as hospitalizações de cuidado intensivo nos Estados Unidos desenvolvem uma infecção nosocomial com uma taxa de incidência de cinco infecções por mil pacientes-dia, e um gasto adicional superior a \$4,5 bilhões (Wentzel R, Edmond M D, "The Impact of Hospital Acquired Blood Stream Infections," *Emerg. Inf. Dis.*, Mar-Abril

2001:7(174)). Quando esta taxa é aplicada a 35 milhões de pacientes admitidos por 7.000 instituições de cuidados intensivos nos Estados Unidos, estima-se que existam mais de 2 milhões de casos por ano. É estimado que as infecções nosocomiais no mínimo duplicam os riscos de mortalidade e mor-
5 bidez de qualquer paciente admitido.

A expressiva, e crescente, incidência de bactérias resistentes a antibióticos em instalações destinadas aos cuidados com a saúde foi denominada por alguns de "Epidemia Silenciosa". No cenário internacional, um levantamento da Organização Mundial da Saúde de 55 hospitais em 14 paí-
10 ses que representam quatro regiões WHO (Europa, Mediterrâneo Oriental, Sudeste da Ásia e Pacífico Ocidental) relatou que uma média de 8,7% dos pacientes hospitalares eram portadores de infecções nosocomiais. A WHO estima que, em qualquer momento, mais de 1,4 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem e infecção adquirida no hospital.

São de particular preocupação neste contexto as bactérias *C. difficile* e MRSA. Até bem pouco tempo atrás, *C. difficile* era relativamente incomum, mas agora é epidêmica em muitas regiões do mundo. Na realidade, atualmente é reconhecida por um número crescente de funcionários da
15 saúde pública como uma epidemia mundial (pandemia) com incalculáveis implicações na área financeira e da saúde. A MRSA foi identificada pela American Academy of Orthopaedic Surgeons como a maior preocupação em procedimentos cirúrgicos, e coincidindo com os recentes artigos de periódicos de que constitui uma "epidemia silenciosa". Nos atuais procedimentos de limpeza e esterilização de uma instalação para cuidados com a saúde, *C. difficile* e MRSA, bem como as já mencionadas *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE), são tratadas de
25 forma ineficaz e posteriormente removidas, de modo que as colônias destes patógenos se acumulam nas instalações para os cuidados com a saúde, especialmente sobre superfícies porosas, por exemplo, tapetes e cortinas.

30 As tentativas no sentido de combater e exterminar as infecções nosocomiais causadas por bactérias como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* são dificultadas pelo fato de que as bactérias crescem

no interior de biofilmes que as protegem de fatores ambientais diversos. Um biofilme é um agregado de Micro-organismos onde as células aderem umas às outras e/ou a uma superfície. Elas estão frequentemente incrustadas em uma matriz autoproduzida de substância polimérica extracelular (EPS), uma
5 congregação polimérica em geral composta de DNA extracelular, proteínas e polissacarídeos. Os biofilmes se formam sobre as superfícies, por exemplo, no âmbito hospital, na presença de vapor d'água.

Micro-organismos de flutuação livre no modo planctônico (célula única) se fixam a uma superfície, e se não forem imediatamente removidas,
10 irão ancorar de forma mais permanente à superfície. Estes primeiros colonizadores proporcionam sítios de adesão mais diversificados para a chegada de outras células, começando desta forma a construir uma matriz que mantém a coesão do biofilme e proporciona sítios adicionais de ancoragem para as células que chegam. O biofilme cresce através de uma combinação de
15 divisão celular e recrutamento. Quando o biofilme é estabelecido, as colônias de células agregadas aparentam ser progressivamente mais resistentes aos antibióticos. Foi ainda relatado que as bactérias do biofilme aplicam armas químicas em sua defesa contra os desinfetantes e antibióticos (Vide "Biofilm Bacteria Protect Themselves With Chemical Weapons", Dr. Carsten
20 Matz e outros, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, divulgado em Inforriac.com, 23 de julho de 2008).

As bactérias que habitam um biofilme têm propriedades que as diferem significativamente da forma planctônica da mesma espécie, visto que o ambiente denso e protegido do filme permite que cooperem e intera-
25 jam de diversas formas. A terapia tradicional com antibióticos usualmente não é suficiente para erradicar infecções crônicas, e uma das principais razões para sua persistência parece ser a capacidades de crescimento das bactérias no interior de biofilmes que as protegem dos fatores ambientais diversos.

30 Constituem ainda uma preocupação crescente os iminentes ataques em guerras e bioterroristas que utilizam bactérias potencialmente letais. Algumas das bactérias mais nocivas, por exemplo, antrax, são altamen-

te resistentes aos tratamentos e agentes convencionais de esterilização. A contaminação de instalações públicas com tais bactérias constitui uma ameaça significativa à vida humana com quantidades residuais de tais bactérias, o que praticamente impossibilita sua remoção com a utilização dos métodos correntes.

BREVE REFERÊNCIA À TÉCNICA ANTERIOR.

Os procedimentos correntes para a sanificação de hospitais e demais instalações para cuidados com a saúde vêm progressivamente perdendo sua eficácia, resultando no acúmulo de bactérias mortais nas instalações. Os crescentes custos da prestação de serviços de saúde na maioria dos países, se não em todos eles, defendem não investir tempo e esforço além do mínimo necessário nos procedimentos de limpeza e esterilização.

Soluções cloradas com e sem amônia são comumente utilizados, mas demonstraram sucesso limitado. Some-se a esse desafio o fato de que tais soluções não podem ser utilizadas em dispositivos eletrônicos normalmente instalados nas enfermarias, recintos de recuperação, teatros em funcionamento, etc.

O peróxido de hidrogênio vaporizado (VHP) é altamente eficaz quando aplicado a superfícies lisas, mas é pouco ou nada eficaz sobre materiais porosos e tecidos. Além disso, o VHP é extremamente danoso a dispositivos eletrônicos.

Uma vez que uma superfície não médica, como tapetes, cortinas, roupas de cama, material poroso nos tetos e outras similares, tenha sido impregnada com patógenos altamente resistentes, especialmente aqueles que produzem esporos, como *C. difficile*, essa superfície não pode ser efetivamente desinfetada com o uso dos atuais agentes e processos disponíveis.

O ozônio é conhecido por ser um potente agente antibacteriano, antifúngico e antiviral. Há mais de 100 anos é utilizado para purificação da água. Sua eficácia é reconhecida contra populações de *Legionella bacteria*, *E. coli* e *Pseudomonas* em tais plantas.

O uso do ozônio em instalações destinadas aos cuidados com a

saúde, no entanto, é problemático. Soluções que contenham ozônio são explosivas quando aquecidas. A exposição ao ozônio é nociva, sob o ponto de vista médico, causando irritação das membranas dos olhos e mucosas, edema pulmonar, e doença respiratória crônica se os reduzidos níveis de segurança forem ultrapassados. Mais ainda, é amplamente reconhecido como um risco ambiental.

O Pedido de Patente do Canadá 2.486.831 Arts e outros, descreve o uso de uma combinação de ozônio e radiação UV para descontaminação do ar em um recinto como uma unidade de isolamento móvel, um recinto hospitalar e outros do gênero. O ar é levado a escoar através de uma unidade portátil que contém um filtro exposto ao ozônio.

O Pedido de Patente dos Estados Unidos 7.404.624 Cumberland e outros, expedido em 5 de agosto de 2008, descreve métodos para reduzir alérgenos, patógenos, odores e compostos orgânicos voláteis no ar, utilizando uma atmosfera dotada de combinações específicas de concentração de ozônio, concentrações de peróxido de hidrogênio, temperatura e umidade entregues ao longo de um período de tempo específico. A patente contém um relato experimental para o tratamento de recintos de uma residência, tratando com eficácia os esporos do mofo *Cladosporium* e do mofo *Penicillium/Aspergillus* no ar do recinto. Não foram fornecidos detalhes acerca das condições precisas utilizadas. Não há demonstração ou descrição do tratamento das superfícies contaminadas em um recinto. A descrição geral da patente afirma que condições selecionadas de concentração de ozônio, peróxido de hidrogênio, umidade e temperatura são altamente eficazes na eliminação de mofos e fungos transmitidos via aérea em concentrações de ozônio abaixo de 6 - 9 ppm, mas as condições precisas não são descritas. De modo geral, a patente ensina o uso em uma atmosfera de 2 - 10 ppm de ozônio, peróxido de hidrogênio que esteja entre 75% - 150% por peso da concentração atmosférica de ozônio, em uma temperatura de 15 - 27°C e tempo de 0,5 - 3 horas. É afirmado que diversos patógenos transmitidos pelo ar, inclusive bactérias, podem ser tratados por este método, mas não é oferecida qualquer evidência experimental.

Portanto, há carência de um sistema eficaz, porém econômico, que promova a desinfecção de recintos das instalações destinadas aos cuidados com a saúde, inclusive de todo o seu conteúdo. Um sistema desse tipo reduziria drasticamente (99,999% ou acima) pelo menos as quantidades das cinco bactérias mencionadas em todos os espaços contaminados que sejam de valor clínico e de saúde pública. Ademais, é preciso atingir um nível tal de descontaminação microbiana que permita ao espaço ser privado de sua finalidade exclusivamente por um período mínimo de tempo, permanecendo, nesse ínterim, seguro e inofensivo aos equipamentos eletrônicos e aos demais equipamentos no recinto. Consequentemente, o processo de descontaminação não deve requerer o esvaziamento do conteúdo do espaço em questão, enquanto o sistema é operado.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona, em um aspecto, um sistema de desinfecção à base de ozônio para recintos e seus conteúdos no interior de todas as instalações destinadas aos cuidados com a saúde, móveis ou estacionários, e outras infraestruturas essenciais, como escolas e prédios governamentais. Utilizando tal sistema, gases contendo ozônio são entregues e aplicados às superfícies e equipamentos e aos objetos contidos no recinto. A aplicação pode ser feita por meio do contato simples da atmosfera gasosa com as superfícies, ou, no caso de superfícies de difícil limpeza, como cortinas, tapetes e demais superfícies fibrosas, isso pode ser feito por meio de um sistema de desalojamento que promova a agitação física da superfície (escovas de limpeza, jatos de alta pressão ou similares, por vezes chamados neste documento de "purificação"). Os gases contendo ozônio são aplicados em concentrações controladas e, em alguns casos, em pressões elevadas constatadas como de natureza eficaz na destruição de patógenos virais, bacterianos e fúngicos de caráter crítico encontrados nos ambientes, incluindo-se, entre outros, as cinco bactérias especialmente inconvenientes *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA); e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE).

Além de eliminar efetivamente os patógenos aerossolizados dentro de um dado espaço, o sistema da invenção também permite a um operador aplicar os gases que contêm ozônio em concentrações predeterminadas de ozônio diretamente às superfícies problemáticas no recinto, com uma ação de agitação física e sob pressão quando apropriado. O sistema inclui ainda uma unidade destruidora de ozônio que remove o ozônio residual da atmosfera do recinto. Todo o sistema é portátil, podendo ser movido de recinto para recinto conforme a necessidade, além de ser inofensivo ao equipamento contido no recinto. Uma vez que o processo de esterilização seja finalizado, o recinto pode retornar ao uso médico no prazo de 20 minutos, com o ozônio atmosférico residual em um nível aceitável igual ou inferior a 0,04 ppm.

BREVE REFERÊNCIA AOS DESENHOS

A figura 1 dos desenhos acompanhantes é uma ilustração esquemática de um aparelho de acordo com uma modalidade da invenção, disposto dentro de um recinto a ser desinfetado;

As figuras 2A e 2B são ilustrações esquemáticas dos sistemas de agitação física para uso nas modalidades da invenção;

A figura 3 é uma ilustração esquemática de um aparelho de acordo com a invenção, em um modo de transporte portátil;

A figura 4 é uma ilustração esquemática de um aparelho de teste utilizado para gerar alguns dos resultados de teste divulgados abaixo;

A figura 5 é uma ilustração esquemática do aparelho de teste utilizado para gerar os resultados divulgados no Exemplo 10 abaixo.

AS MODALIDADES PREFERENCIAIS

Um recurso significativo do sistema de acordo com determinadas modalidades da invenção é a capacidade de ajustar uma pressão da mistura de ozônio/gás oxigênio que é utilizada com a finalidade de desinfecção. Foi constatado que, em muitos casos, a desinfecção eficaz de um recinto e de seu conteúdo da contaminação bacteriana pode ser maximamente obtida pressurizando uma atmosfera no recinto com a mistura de ozônio/oxigênio contendo de cerca de 10 a cerca de 100 ppm de ozônio, até

uma pressão mais alta que a pressão atmosférica normal, por exemplo, de cerca de 14,7 psi a cerca de 100 psi. Um jato de ar pressurizado localizado também pode ser utilizado, o que tornaria desnecessário elevar a pressão geral no recinto. Elevar a pressão do recinto pode requerer uma vedação inicial do recinto antes do processo de descontaminação. Com muitos recintos onde os procedimentos médicos são conduzidos, como teatros em funcionamento, este é um processo simples, visto que tais recintos são projetados para permanecerem substancialmente vedados quando em uso para procedimentos médicos. Com outros recintos, pode ser necessário alguma preparação inicial de significância.

Outra modalidade particularmente preferencial da invenção utiliza peróxido de hidrogênio, bem como ozônio, na atmosfera gasosa desinfetante. Quando são utilizados ozônio e peróxido de hidrogênio, talvez não seja preciso elevar a pressão no interior do recinto. Bactérias particularmente inconvenientes que provavelmente causam infecções nosocomiais em um ambiente hospitalar, a saber, *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA); *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE), se depositam sobre as superfícies de um ambiente hospitalar, como superfícies de aço inoxidável, superfícies cerâmicas e superfícies de mármore, e rapidamente formam um biofilme onde prosperam os Micro-organismos. O tratamento com a combinação de peróxido de hidrogênio e ozônio, na umidade apropriada, de acordo com este aspecto preferencial da invenção, destrói as bactérias no biofilme, seja pelo ataque químico do biofilme para expor os Micro-organismos à ação biocida do ozônio e peróxido de hidrogênio, pela interferência da atividade das células bacterianas no biofilme pela combinação de ozônio/peróxido de hidrogênio empregada, ou por uma combinação de todos esses mecanismos, possivelmente com outros.

Portanto, de acordo com esta modalidade preferencial da presente invenção, em um aspecto, é fornecido um processo para combater bactérias em um espaço confinado dentro de um recinto e contidas no biofilme sobre as superfícies no interior do recinto, que compreende:

criar no recinto uma atmosfera desinfetante que inclui ozônio em uma concentração de 2 - 350 ppm por peso e peróxido de hidrogênio em uma quantidade de 0,2 - 10 por cento em peso, em uma umidade relativa de pelo menos 60%;

- 5 expor as superfícies portadoras do biofilme contendo bactérias vivas à atmosfera desinfetante por um período de pelo menos 30 minutos, suficientes para uma exterminação efetiva das bactérias no microfilme;
- e em seguida remover o ozônio da atmosfera, até um nível igual ou inferior a 0,04 ppm.

- 10 Preferencialmente a atmosfera desinfetante tem uma umidade relativa de pelo menos 65%.

 Outra modalidade preferencial proporciona um processo para desinfetar um recinto e as superfícies do mesmo para combater pelo menos um dos Micro-organismos bacterianos *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA); *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE); *Bacillus subtilis*,
15 e/ou antrax, que compreende expor o recinto e as superfícies do mesmo a uma atmosfera gasosa que inclui uma quantidade eficaz de ozônio e uma quantidade eficaz de peróxido de hidrogênio, por um período de tempo que
20 reduza substancialmente os níveis de bactérias sobre as superfícies, e em seguida removendo o ozônio residual na atmosfera do recinto, até um nível seguro e reduzido.

 O processo é particularmente eficaz com ou sem agitação física, na desinfecção de superfícies de aço inoxidável que abundam nas instala-
25 ções de tratamento médico, e sobre as quais as bactérias são persistentes e difíceis de destruir, em decorrência, pelo menos em parte, de sua geração a partir de um biofilme sobre tais superfícies. O processo também é eficaz na destruição e desativação das bactérias antrax, conforme comprovado por sua eficácia contra o substituto bem estabelecido do antrax, *Bacillus subtilis*.

- 30 De acordo com outro aspecto desta modalidade, é fornecido adicionalmente um sistema portátil para desinfetar rapidamente recintos, superfícies e os equipamentos ali contidos, que compreende:

um gerador de ozônio para descarregar no recinto uma mistura gasosa incluindo ozônio;

um controlador de ozônio adaptado para controlar uma quantidade de ozônio descarregado;

5 uma fonte de peróxido de hidrogênio para descarregar quantidades controladas de peróxido de hidrogênio no recinto;

meio para descarregar o peróxido de hidrogênio e ozônio no recinto;

10 meio de ajuste de umidade adaptado para elevar ou reduzir a umidade relativa do recinto durante tratamento; e

um removedor de ozônio adaptado para destruir ozônio, até um nível seguro na atmosfera do recinto para posterior utilização humana.

Em algumas circunstâncias é benéfico, aumentar a eficácia e reduzir a duração do processo, para operar em pressão elevada, mesmo
15 quando ozônio e peróxido de hidrogênio são utilizados no gás desinfetante. Assim, de acordo com outro aspecto da presente invenção, é fornecido um processo para desinfetar um recinto de uma instalação para cuidados com a saúde, que compreende:

20 introduzir no recinto uma mistura gasosa que inclui ozônio e peróxido de hidrogênio em quantidades eficazes;

elevar a pressão no interior do recinto acima da pressão atmosférica, ou introduzir uma corrente de gás pressurizado;

25 agitar fisicamente as superfícies fibrosas e porosas no interior do recinto enquanto as superfícies são expostas à corrente de gás pressurizado de peróxido de hidrogênio e à atmosfera contendo ozônio de umidade relativa pelo menos 60%;

retornar o recinto à pressão atmosférica; e,

remover o ozônio residual da atmosfera do recinto, até um nível seguro.

30 As quantidades preferenciais de ozônio são de cerca de 20 - 350 partes por milhão na atmosfera do gás de tratamento, mais preferencialmente de 20 - 200, ainda mais preferencialmente 20 - 90 partes por milhão na

mistura gasosa de oxigênio/ozônio, e com preferência máxima 35 - 80 ppm de ozônio. As quantidades preferenciais de peróxido de hidrogênio são as quantidades supridas à atmosfera de tratamento do recinto utilizando uma solução aquosa contendo 0,2 - 10%, mais preferencialmente 1 - 5%, de peróxido de hidrogênio. Na descrição abaixo, os percentuais de peróxido utilizados são algumas vezes expressos em termos destes percentuais da solução. As quantidades são selecionadas para que nenhum efeito deletério grave seja sofrido por outro equipamento no recinto do tratamento. A quantidade de peróxido de hidrogênio na atmosfera desinfetante pode ser calculada a partir do volume de peróxido de hidrogênio aquoso evaporado na atmosfera desinfetante, do volume do recinto que é desinfetado e da concentração de peróxido de hidrogênio na solução de partida. Tempos de exposição do recinto e de sua superfície à atmosfera contendo ozônio são adequadamente de 30 minutos a cerca de 120 minutos, preferencialmente de cerca de 60 a cerca de 105 minutos, e com preferência máxima de cerca de 90 minutos. Estes tempos são limitados em parte pela necessidade de limpeza do recinto de ozônio (até um máximo de 0,04 ppm) em seguida à fase de desinfecção, e devolver o recinto ao uso médico dentro de um período de tempo razoável, com um tempo completo entre o início e finalização não superior a 150 minutos. A remoção do ozônio é um processo extremamente rápido e plenamente eficaz. Tanto o peróxido de hidrogênio quanto o ozônio (e quaisquer produtos que interajam com os mesmos) precisam ser removidos antes que o recinto retorne ao uso normal.

Outro recurso significativo das modalidades preferenciais da presente invenção é o fornecimento de um sistema de desalojamento na extremidade de saída da descarga. O sistema de desalojamento permite a penetração das superfícies do tapete, cortina e superfícies similares no recinto, para obter acesso aos esporos e/ou colônias de bactérias sequestrados/ocultos. O sistema de desalojamento pode ser operado manualmente, com operadores protegidos por uma máscara ou vestimenta protegida, ou pode ser operado remotamente ou ser totalmente automatizado. Pode adotar a forma de um ou mais jatos de saída, com associação de controles de

pressão de jato operados manualmente. Pode adotar a forma de uma escova fixa ou revoluta com cerdas de rigidez apropriada, isoladamente ou em combinação com um jato de saída. Qualquer forma de sistema de desalojamento eficaz para perturbar o empilhamento de tecidos do tapete, tecidos do estofamento e outros itens similares para acessar as partes remotas capaz de abrigar esporos ou colônias bacterianas pode ser utilizada. Isso inclui aplicações não físicas, como jatos de ar, energia ultrassônica, energia de frequência de rádio e ondas eletromagnéticas, por exemplo, capazes de causar degradação física e que resultam em movimentos micro físicos das superfícies fibrosas.

O ozônio para uso na presente invenção pode ser gerado por qualquer meio conhecido. No caso de corona ou outra geração de descarga elétrica de oxigênio, o aparelho da invenção inclui preferencialmente um recipiente de oxigênio de graduação médica. O recipiente de oxigênio pode ser um vasilhame pressurizado padrão contendo oxigênio de graduação médica, do tipo normalmente encontrado em instalações médicas. O oxigênio deste recipiente é abastecido a um gerador de ozônio, onde o oxigênio é submetido à descarga elétrica, normalmente com corrente alternada de alta tensão, para converter pequenas quantidades de oxigênio em ozônio e produzir uma mistura gasosa de oxigênio e ozônio. A quantidade de ozônio na mistura é controlável pelo ajuste da tensão de descarga elétrica. Geradores de ozônio adequados são conhecidos e estão comercialmente disponíveis. As quantidades relativas de ozônio geradas são relativamente pequenas, expressas em partes por milhão (ppm), mas o poder desinfetante do ozônio, especialmente em combinação com o peróxido de hidrogênio de acordo com esta invenção, é tal que essas pequenas quantidades de ozônio é tudo que é necessário.

Formas alternativas de geração de ozônio podem ser utilizadas, se essa for a preferência. Uma radiação ultravioleta de comprimento de onda apropriado, que incida mediante oxigênio ou ar, é uma alternativa aceitável. Nesse tipo de sistema, o ar do recinto em si pode ser alimentado na unidade geradora de ozônio para suprir o oxigênio necessário à conversão em ozô-

nio. Outros métodos de geração de ozônio passíveis de uso incluem reações fotocatalíticas, plasma frio, etc.

5 A umidade relativa do espaço de tratamento deve ser de pelo menos 60% e preferencialmente de pelo menos 65%, para uma desinfecção eficaz. Para garantir isso, é preferível incorporar um umidificador no sistema da invenção, utilizando água estéril de um reservatório de sistema interno para ajustar e controlar a umidade da mistura gasosa emissora. Desta forma, a umidade desejável para uma desinfecção mais eficaz é obtida no ponto de descarga onde o desalojamento de um tapete ou superfície de cortina
10 pode ocorrer. O umidificador ajustável precisa somente aumentar a umidade do espaço até o nível desejado, podendo ser posicionado em qualquer local dentro do espaço. Quando utilizando peróxido de hidrogênio, além do ozônio, o vapor do peróxido de hidrogênio é aplicado convenientemente, em quantidades controladas, ao vapor de ar / água emitido pelo umidificador e,
15 portanto, é adicionado à mistura gasosa contendo ozônio/oxigênio. Como alternativa, o peróxido de hidrogênio pode ser aplicado à água utilizada para umidificar o local alvo. O peróxido de hidrogênio está comercialmente disponível como soluções aquosas de concentrações padronizadas de peróxido de hidrogênio. Para uso nas modalidades da presente invenção, uma solução
20 padrão com uma concentração conhecida de peróxido é adequadamente diluída por um volume fixo de água destilada. A carga de peróxido é padronizada com base no volume de água conhecida da solução de peróxido requerido para elevar a umidade relativa até o ponto desejado, por exemplo, de 40 - 80%. A partir daí, é possível calcular a quantidade de peróxido de
25 hidrogênio em percentual de volume ou ppm por volume introduzido na instalação para tratamento.

Determinados sistemas de acordo com as modalidades da invenção podem incluir um controlador e ajustador de temperatura para a mistura gasosa. Isso pode ser um aquecedor / resfriador simples através do qual passa o oxigênio incidente e a mistura de oxigênio/ozônio gerada antes
30 da descarga na atmosfera do recinto. Apesar de que um simples ajuste da temperatura do recinto utilizando um sistema externo de aquecimento do

recinto e termostato possa ser eficaz, é preferível ajustar a temperatura da mistura gasosa que é emitida, para um tratamento de máxima eficácia das superfícies do tapete e cortinas. A faixa de temperatura ideal para a descontaminação de patógenos por ozônio e ozônio/peróxido de hidrogênio é de
5 15°C a 30°C.

O sistema da invenção inclui ainda uma unidade de remoção de ozônio. Tais unidades são conhecidas, e podem ser adquiridas comercialmente para uso na presente invenção. Dependendo do volume da atmosfera do recinto e da capacidade da unidade de remoção de ozônio, mais de uma
10 unidade deste tipo unidade pode ser incorporada no sistema da invenção. Unidades de remoção de ozônio convenientes são aquelas que empregam carbono ativado como meio de remoção. Estas unidades atuam com muita rapidez, e não levam à formação de produtos de reação perigosos. A inclusão de tais unidades permite que a instalação tratada fique livre de ozônio e
15 seja devolvida ao uso normal rapidamente, um recurso importante onde estejam envolvidas instalações para cuidados com a saúde. Outros tipos incluem sistemas baseados em catalisadores, como óxido de manganês ou outros óxidos metálicos, os quais podem ser aquecidos para remover a umidade, destruição térmica juntamente com outros metais, inclusive platina ou
20 paládio.

A figura 1 dos desenhos acompanhantes mostra uma sala cirúrgica do recinto para pacientes 10, fechada e pronta para desinfecção por meio de um processo de acordo com uma modalidade da invenção. A sala é vedada de forma substancialmente hermética. Dentro da sala está um cilindro pressurizado 12 de oxigênio, abastecendo um umidificador 14 com o gás
25 oxigênio e, portanto, um gerador de ozônio 16, que inclui placas de descarga elétrica de tensão variável para ajustar a quantidade de ozônio que é gerada. Um aquecedor e um controlador de pressão (não mostrado) podem ser dispostos próximo à entrada do gerador de ozônio. A saída da mistura gasosa de oxigênio/ozônio ocorre por meio das saídas do recinto 18, 20 até uma
30 atmosfera da sala 10, e por meio das varetas 22A e/ou 22B até um meio de desalojamento na forma de escovas de purificação 24A e 24B montadas so-

bre as extremidades de saída das respectivas varetas 22A, 22B. O aquecedor, o controlador de pressão, a tensão suprida ao gerador de ozônio 16 e o nível de umidade fornecido pelo umidificador 14 são todos controlados e ajustados a partir de um painel de controle externo 26 por meio das respectivas conexões elétricas 28, 30, 32 e 34. Também é disposto dentro da sala um ventilador oscilante 34 e uma unidade de filtro de destruição de ozônio 36.

É disposto no interior da sala 10 um recipiente de solução aquosa de peróxido de hidrogênio 19 e soprador de ar associado 21 que, durante a operação, sopra peróxido de hidrogênio vaporizado em quantidades controladas na vareta de descarga 22A e 22B para misturar com a saída de ozônio/oxigênio no mesmo. A quantidade de peróxido de hidrogênio que é suprida é controlada pelo ajuste do soprador 21 através de uma conexão do mesmo ao painel de controle 26. Em uma disposição alternativa, o peróxido de hidrogênio pode ser suprido pelo gerador 19 ao umidificador 14.

As figuras 2A e 2B dos desenhos acompanhantes mostram com mais detalhamento as formas dos meios de desalojamento 24A e 24B para uso na presente invenção, fixados à saída, as extremidades de descarga das respectivas varetas 22. O meio de desalojamento 24A tem um bico de saída de jato 38A em sua extremidade, e uma placa em geral circular 40 montada sobre a vareta 22A próximo à extremidade de descarga. A vareta 22A passa através de uma abertura central 42 em uma placa 40. A placa 40 possui cerdas de escova 46A montadas em sua superfície inferior, dispostas em dois arcos ao redor do bico de saída de jato 38A e que se projetam para baixo até um ponto imediatamente além da extensão de saída do bico 38A. Em uso, a mistura gasosa de oxigênio/ozônio ou a mistura de gás oxigênio/ozônio/ peróxido de hidrogênio parte do bico 38A em uma pressão relativamente alta, e pode ser direcionada pelo operador que segura a vareta a uma área da superfície do tapete ao mesmo tempo em que o operador esfrega a área da superfície do tapete com as cerdas 46A.

A figura 2B mostra uma disposição alternativa, mas essencialmente similar, em que a placa 40 é substituída por uma plataforma com ro-

das 44 que carrega duas escovas rotativas 46B e três saídas de jato 38B para a entrega de oxigênio/ozônio/peróxido de hidrogênio na pressão, localizada anteriormente às escovas rotativas 46B.

A figura 3 dos desenhos acompanhantes ilustra a portabilidade de um sistema de acordo com a invenção. As partes são numeradas como na figura 1. Um carrinho com 4 rodas 24 é fornecido, sobre o qual todas as partes componentes do sistema podem ser carregadas para facilidade de transporte de um recinto a outro. O painel de controle e instrumentação pode ser desconectado para transporte, e novamente conectado e disposto do lado externo quando o aparelho estiver localizado em outro recinto para uso como mostra a figura 1. O carrinho 24 é removido enquanto o sistema estiver em uso, mas é carregado com os componentes depois do uso, seja para transporte a outro recinto, seja para armazenamento.

A operação do sistema será prontamente evidenciada a partir da descrição precedente acerca de suas partes componentes e de sua interconexão. O carrinho 24 que carrega as partes componentes é deslocado no recinto 10 a ser desinfetado, e as partes são distribuídas ao redor do recinto e conectadas em conjunto como ilustrado na figura 1. Um operador vestido com uma roupa de segurança e demais vestes protetoras adequadas entra no recinto e segura a vareta 22. O recinto é vedado. As condições de tratamento são reguladas no painel de controle 26, e o aparelho é ligado para que a mistura de mistura gasosa de oxigênio/ozônio/peróxido de hidrogênio em condições controladas da concentração de ozônio, concentração de peróxido de hidrogênio, umidade relativa, temperatura e pressão elevada seja emitida pelo bico do jato 38. O operador aplica a mistura gasosa em jatos às superfícies dos tapetes, superfícies drapeadas e demais superfícies absorventes no recinto, esfregando ao mesmo tempo as superfícies com as cerdas 46. O recinto é pressurizado acima da pressão atmosférica, em decorrência da introdução da mistura gasosa de oxigênio/ozônio. A pressão é monitorada continuamente pelo painel de controle 26 para garantir condições seguras de trabalho ao operador, bem como a temperatura, umidade e concentração de ozônio no recinto. Superfícies lisas no recinto talvez não preci-

sem da ação do meio de desalojamento, mas são satisfatoriamente desinfetadas pelo contato com a atmosfera no recinto, especialmente quando peróxido de hidrogênio e ozônio forem utilizados em combinação. O ventilador oscilante 34 é operado durante todo o procedimento, para circular a mistura
5 de oxigênio/ozônio em todo o recinto.

Após um tempo pré-regulado do procedimento, e depois que todas as superfícies absorventes apropriadas foram purificadas, período normalmente não superior a 90 minutos, o suprimento de peróxido de hidrogênio (se utilizado), o suprimento de oxigênio e o gerador de ozônio são desligados. Em seguida o filtro destruidor de ozônio é operado, sugando os gases que contêm ozônio, destruindo o ozônio e emitindo oxigênio puro a partir
10 do mesmo. O recinto pode ser aberto neste momento, o aparelho desconectado e carregado no carrinho 24, e o recinto devolvido ao seu uso normal.

EXEMPLOS EXPERIMENTAIS

15 Condições ideais e eficazes para uso na presente invenção foram determinadas utilizando um aparelho de laboratório como geralmente ilustrado na figura 4 dos desenhos acompanhantes.

Uma única colônia pura de cada uma das bactérias de teste aeróbicas, a saber, *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*
20 resistente à metilicina (MRSA); e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE) foi inoculada em uma placa com ágar Colúmbia com 5% de sangue de ovelha. As placas foram incubadas a 35°C no ar ambiente por 18 - 24 horas. Da placa, foram selecionadas 4-5 colônias isoladas, e suspensas em caldo triptico de soja para obter um padrão de turbidez de McFarland igual a
25 0,5 ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml) medido com o uso de um espectrofotômetro. O inóculo foi preparado realizando diversas diluições em série de 0,9 ml de caldo de NaCl a 0,85 com 0,1 ml do inóculo original a 0,5 de McFarland (6 x 10 vezes) para produzir soluções de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} ufc/mL.

Os organismos foram plaqueados em três repetições, onde 0,1
30 ml de cada solução foram espalhados por toda a superfície das placas de ágar Columbia com sangue de ovelha. Dois conjuntos de placas (12 placas por organismo) foram submetidos a uma exposição de ozônio/oxigênio em

concentrações de ozônio (ppm), condições de umidade e temperatura pré-selecionadas no aparelho ilustrado. Os outros conjuntos de 2 foram tratados como controles, sem qualquer exposição ao ozônio, mas mantidos à temperatura ambiente.

- 5 Para exposição ao ozônio, foi utilizado o aparelho ilustrado de modo geral na figura 4.

As placas de teste foram montadas dentro de uma câmara de desinfecção 60, cuja extremidade a montante 62 tinha uma porta de entrada de ozônio 64, uma porta de entrada do vapor de peróxido de hidrogênio 65
10 (que foi bloqueada nos Exemplos 1 - 9 descritos abaixo), e uma porta de entrada de vapor d'água 66. Foi fornecido um cilindro 68 de oxigênio de graduação médica pressurizado, cilindro esse que abastece com oxigênio um gerador de ozônio 70, equipado com placas elétricas de corrente alternada às quais a tensão variável seria suprida através do controle de entrada 72. A
15 saída do gás misto de oxigênio/ozônio do gerador de ozônio 70 foi alimentada à porta de entrada de ozônio 64 da câmara de desinfecção 60. Um umidificador do vapor d'água 74 supriu vapor d'água à porta de entrada 66. A câmara de desinfecção 60 continha adicionalmente um aquecedor/resfriador (não mostrado), um sensor de temperatura 76, um sensor de pressão 78, um
20 sensor de umidade 80 e um sensor de ozônio 82, conectados eletricamente através das respectivas linhas 84, 86, 88 e 90 a um painel de controle e monitor 92, conectado para realimentar o cilindro de oxigênio 68 a fim de controlar o fluxo para fins de ajuste de pressão, ao gerador de ozônio 70 para controlar e ajustar a quantidade de ozônio, ao umidificador do vapor d'água
25 74 para controlar e ajustar a umidade relativa na câmara de desinfecção 60, e ao aquecedor/resfriador para controlar e ajustar a temperatura na câmara. Esses parâmetros foram todos pré-ajustados no painel de controle para os valores desejados e eram automaticamente reajustados intrinsecamente para esses valores à medida que os experimentos progrediam.

- 30 Um filtro destruidor de ozônio 94 foi conectado à extremidade à jusante 96 da câmara de desinfecção 60 na porta de saída 98, para destruir o ozônio emitido pela câmara 60 na extremidade do experimento. Os gases

foram circulados dentro da câmara 60, e expelidos ao término do experimento, utilizando um ventilador 100 montado na mesma. Depois de colocar as placas de teste na câmara 60, ela foi vedada até o término de cada experimento.

5 As placas de controle e as placas tratadas com ozônio foram colocadas em uma incubadora ao mesmo tempo. As contagens da placa foram lidas por meio de um microscópio, e os números de unidades formadoras de colônia sobre cada placa foram contabilizados. Os esporos eram aerotolerantes.

10 EXEMPLO 1

 Uma série de testes conforme descrição acima foi conduzida em MRSA ATCC 33592. As placas portadoras do micro-organismo foram expostas na câmara a uma atmosfera mista de oxigênio/ozônio contendo 80 ppm de ozônio, por 90 minutos a 20°C e 85% de umidade relativa. Foram execu-

15 tadas placas de teste duplicatas. Aliquotas de volume de 10 µL lavadas das placas foram diluídas serialmente com inóculo, para os fatores de diluição final 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} . Placas de controle, não submetidas à exposição ao ozônio, foram preparadas, e as placas incubadas por 24 horas conforme descrição. As superfícies das placas de ágar foram eluídas para

20 remover as colônias de bactérias, e os eluados plaqueados para exame em microscópio.

 A contagem das colônias ativas e reprodutivas de bactérias nas composições eluadas, sob microscópio, revelou que os eluados das placas de controle nas diluições 10^{-2} , tinham 19 e 11 ufc (placas duplicatas), e ne-

25 nhuma ufc das placas de diluição mais alta, enquanto as placas experimentais expostas ao ozônio produziram composições que não exibiam qualquer ufc em qualquer das diluições testadas. Uma redução do log de 3,35 foi alcançada (8,3 log a 4,9 log).

EXEMPLO 2

30 O experimento do exemplo 1 foi repetido utilizando a mesma cepa bacteriana, mas expondo as placas de teste na câmara a 50 ppm de ozônio em oxigênio, a 20°C e 80% de umidade relativa.

A contagem das colônias ativas e reprodutivas de bactérias nas composições eluadas, sob microscópio, revelou que os eluados das placas de controle nas diluições 10^{-2} , tinham 374, 415, 414 e 423 ufc (placas com quatro repetições), 33, 35, 38 e 37 ufc de placas de controle nas diluições 10^{-3} , tinham 4, 1, 2 e 2 ufc na diluição 10^{-4} e nenhuma ufc em diluições mais altas. As contagens dos eluados das placas tratadas revelou 27, 11, 42 e 58 ufc ativas nas diluições 10^{-2} , 3, 1, 3 e 5 ufc na diluição 10^{-3} (placas com quatro repetições), e nenhuma ufc de placas de diluição mais alta.

EXEMPLO 3

O experimento do Exemplo 1 foi repetido, salvo para utilização como organismo de teste a *P. aeruginosa* ATCC 27853. As mesmas condições de exposição ao ozônio, diluição, incubação e teste foram utilizadas. Nas placas de teste, as contagens de colônias ativas de 11 e 18 foram encontradas na diluição de 10^{-2} , e contagens de colônias ativas de 5 e 27 foram encontradas na diluição de 10^{-3} . Em diluições mais altas, não houve colônias detectáveis. Em contrapartida, as placas de controle expostas ao ozônio mostraram colônias extremamente numerosas para serem contadas, em todas as diluições até e inclusive 10^{-6} . Uma redução de log de 2,8 foi obtida (log de 7,9 a log de 5,1).

EXEMPLO 4

O experimento do Exemplo 3 foi repetido, utilizando o mesmo organismo de teste, mas tratando as amostras de teste na câmara com uma mistura de ozônio/gás oxigênio contendo 50 ppm de ozônio, a 80% de umidade, por 90 minutos. Através de procedimentos de teste e recuperação idênticos, foi determinado que as placas de controle tinham ufc extremamente numerosas para serem contadas. As placas de teste, realizadas com duas repetições, tinham contagens de ufc de 212 e 183 na diluição 10^{-2} ; contagens de 13 e 50 na diluição 10^{-3} ; e nenhuma ufc em diluições mais altas.

EXEMPLO 5

O experimento do Exemplo 3 foi repetido, porém utilizando a cepa clínica 80269 de *Enterococcus faecalis* (elevado nível de resistência à vancomicina) como organismo de teste, com exposição de 90 minutos à mis-

tura de ozônio/oxigênio de 35 ppm de ozônio, a 21°C e 80% de umidade relativa. Os eluados de placas de controle (repetidos) tinham contagens de ufc extremamente numerosas para serem contadas na diluição 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} ; contagens de ufc de 402 e 346 na diluição 10^{-5} ; contagens de ufc de 35 e 25 na diluição 10^{-6} ; e contagens de ufc de 14 e na diluição 10^{-7} . Em contrapartida, os eluados das placas de teste (duplicadas) produziram contagens de ufc de 78 e 29 na diluição 10^{-2} ; contagens de ufc de 47 e 6 na diluição 10^{-3} ; 112 e 50 na diluição 10^{-4} ; contagens de ufc de 0 e 1 na diluição 10^{-5} ; contagens de ufc de 1 e 0 na diluição 10^{-6} ; e contagens de ufc de 0 e 1 na diluição 10^{-7} . Uma redução de log de 2,95 foi obtida (log de 7,7 a log de 4,7).

EXEMPLO 6

O experimento do Exemplo 5 foi repetido utilizando a mesma Cepa Clínica VRE do organismo de teste, mas com exposição de 90 minutos à mistura de ozônio/oxigênio de 50 ppm de ozônio, a 20°C e 80% de umidade relativa. Os eluados de placas de controle (duplicados) tinham contagens de ufc extremamente numerosas para serem contadas na diluição 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} ; contagens de ufc de 369 e 359 na diluição 10^{-5} ; contagens de ufc de 46 e 46 na diluição 10^{-6} ; e contagens de ufc de 9 e 2 na diluição 10^{-7} . Em contrapartida, os eluados das placas de teste (duplicatas) produziram contagens de ufc de 50 na diluição 10^{-2} ; contagens de ufc inferiores a 30 na diluição 10^{-3} ; e contagens de ufc iguais a 0 em diluições mais altas 10^{-5} .

EXEMPLO 7

O experimento do Exemplo 3 foi repetido, porém utilizando a cepa ATCC 25922 de *E. coli* do organismo de teste, com exposição de 90 minutos à mistura de ozônio/oxigênio de 35 ppm de ozônio, a 21°C e 80% de umidade relativa. Os eluados de placas de controle (duplicados) tinham contagens de ufc extremamente numerosas para serem contadas na diluição 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} ; contagens de ufc superiores a 300 na diluição 10^{-5} ; contagens de ufc de 95 e 66 na diluição 10^{-6} ; e contagens de ufc de 3 e 10 na diluição 10^{-7} . Em contrapartida, os eluados das placas de teste (duplicatas) produziram contagens de ufc de 43 e 38 na diluição 10^{-2} ; contagens de ufc de 25 e 1 na diluição 10^{-3} ; 6 e 15 na diluição 10^{-4} ; contagens de ufc de 3 e 10 na dilu-

ição 10^{-5} ; e contagens de ufc iguais a 0 em diluições mais altas.

Uma redução de log de 3,22 (log de 7,8 a log de 4,6) foi obtida.

EXEMPLO 8

O experimento do Exemplo 7 foi repetido utilizando a mesma

5 Cepa ATCC 25922 de *E. coli* do organismo de teste, mas com uma exposição de 90 minutos à mistura de ozônio/oxigênio de 50 ppm de ozônio, a 20°C e 80% de umidade relativa. Os eluados de placas de controle (duplicados) tinham contagens de ufc extremamente numerosas para serem contadas na diluição 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} ; contagens de ufc de 563 e 350 na diluição

10 10^{-5} ; contagens de ufc de 74 e 87 na diluição 10^{-6} ; e contagens de ufc de 7 e 7 na diluição 10^{-7} . Em contrapartida, os eluados das placas de teste (duplicatas) produziram contagens de ufc de 13 e 28 na diluição 10^{-2} ; contagens de ufc de 8 e 7 na diluição 10^{-3} ; contagens de ufc de 7 e 5 na diluição 10^{-4} ; e 0 em todas as outras diluições mais altas.

EXEMPLO 9

Uma cepa de *C. difficile* (cepa clínica não toxigênica nº 135, Queens University Medical School, Kingston, Ontário, Canadá) também foi utilizada como um organismo de teste, mas devido às reconhecidas dificuldades no crescimento das cepas de *C. difficile* (exigências anaeróbicas, por

20 exemplo), um método preparatório ligeiramente diferente foi adotado.

A cepa de *C. difficile* foi riscada em placas de ágar-sangue de *Brucella* pré-preparadas 12-20 e incubadas anaerobicamente por 48 horas a 35°C. Cada placa foi inundada com 5 ml de água destilada estéril e as colônias de bactérias delicadamente raspadas da superfície do ágar com uma

25 alça bacteriológica plástica e estéril. A suspensão bacteriana resultante foi misturada e deixada em repouso à temperatura ambiente em um tubo vedado por 20 minutos para permitir a lise osmótica das formas vegetativas das bactérias. À medida que a suspensão bacteriana foi centrifugada a 3.000 x a gravidade por 20 minutos para peletizar os esporos e as células bacterianas

30 remanescentes. O sobrenadante foi descartado e o pélete ressuspense em 5 - 7 mililitros de água destilada estéril e misturada vigorosamente para res-suspender os esporos e as células bacterianas remanescentes. As etapas

acima foram repetidas três vezes para produzir um pélete consistindo em esporos de *C. difficile*. Para exterminar bactérias vegetativas remanescentes, a suspensão final foi colocada em um bloco de aquecimento a 70°C por 20 minutos. Os esporos foram armazenados em etanol 100% a 4°C. Esta
5 preparação produziu aproximadamente $1,5 \times 10^5$ ufc/ml de esporos. A coloração de Gram da preparação de esporos confirmou que a suspensão consiste de esporos com pouquíssimas células vegetativas.

Diluições em série de 10 vezes a suspensão de esporos em Na Cl estéril a 0,85% NaCl foram conduzidas como previamente descrito, e em
10 seguida a inoculação foi conduzida aspergindo 0,1 ml de cada diluição sobre a superfície de placas de ágar BAK. A produção de esporos de *C. difficile* foi de cerca de 6×10^4 - 2×10^6 ufc/ml. Algumas placas foram expostas ao ozônio no aparelho ilustrado como previamente descrito, outros foram mantidos como controles.

15 As placas de teste foram expostas por 90 minutos à mistura de ozônio/oxigênio com 35 ppm de ozônio, a 21°C e 80% de umidade relativa. A incubação seguinte foi de 48 horas sob condições anaeróbicas. Os eluados de placas de controle (duplicados) tinham contagens de ufc de 113 e 50 na diluição 10^{-2} e 10 e 10 na diluição 10^{-3} ; enquanto os eluados das placas de
20 teste não mostraram qualquer ufc nas diluições testadas.

Uma redução de log de 4 (log de 4 a zero) foi obtida.

EXEMPLO 10

Experimentos conduzidos para simular os problemas comumente enfrentados na maior parte dos hospitais modernos relacionados à des-
25 contaminação de produtos têxteis, como tapetes e cortinas, demonstraram claramente a eficácia superior do fluxo de ar direto pressurizado em um ambiente gasoso mais estático. Foi utilizado um aparelho como ilustrado diagramaticamente na figura 5 em anexo. Uma câmara 100, fechada enquanto os experimentos estavam em progresso, continha perto de uma extremidade
30 um quadro 102 que prendia uma camada (disco) 104 de material de cortina fibroso (gaze de algodão estéril), impregnado com MRSA e seco de modo que fosse formado um biofilme. Uma atmosfera rica em ozônio é abastecida

na câmara. Um ventilador elétrico 106 com lâminas rotativas 108 foi disposto a 3 cm da gaze, de modo a soprar os gases dentro da câmara através da gaze em alta velocidade, para promover a agitação física da gaze. Um prato 110 contendo uma gaze exposta impregnada de forma similar 112 foi disposto próximo à outra extremidade da câmara 100, para que fosse exposta à atmosfera essencialmente estática na câmara. Uma gaze de controle, que foi impregnada de forma similar, mas recebida no tratamento, também foi avaliada.

Os resultados estão divulgados no quadro 1 abaixo. No quadro 1, as colunas A, B, C e D são os resultados em diluições seriadas em 10 vezes, obtidas por procedimento padronizado. Os resultados medidos nas gazes submetidas à agitação física são registrados como "diretos". Os resultados sobre as gazes em atmosfera essencialmente estática são registrados como "indiretos".

Qualquer que seja o caso, a combinação de 80 ppm de ozônio e 1% de H_2O_2 em uma umidade relativa de 80% com um tempo de exposição de 30 minutos mostrou-se superior a todas as outras combinações que incluíam 1% de H_2O_2 sem ozônio e 80 ppm de ozônio sem H_2O_2 . Nestes experimentos a metodologia utilizada para os procedimentos microbiológicos foi idêntica à anteriormente descrita para os outros experimentos. Consequentemente, conclui-se que para obter uma exterminação bacteriana de log de 6-7 em ambientes hospitalares onde tapetes e outros produtos têxteis são comumente encontrados, um aplicador de pressão ou agitador física de ozônio/ H_2O_2 é imprescindível. Com base nos experimentos fornecidos e em outras pesquisas, o aumento incremental na exterminação bacteriana passível de ser alcançada por meio de um aplicador de pressão é da ordem de 2 - 3 logs (100 - 1000 x maior).

QUADRO 1

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Nº do ciclo	Orga-nismo	Ozônio (PPM)	H2O2 (%)	EXP (min)	Umi-dade	Disco	A	B	C	D	
Con-trole	MRSA	0	0	0	0	Con-trole	TNTC	180	2	0	
1	MRSA	80	1	30	80	1	0	0	0	0	Direto
2	MRSA	80	1	30	80	2	77	11	2	1	Indi-reto
3	MRSA	0	0	60	80	3	TNTC	TNTC	181	12	Direto
4	MRSA	0	0	60	80	4	TNTC	233	21	3	Indi-reto
5	MRSA	0	1	60	80	5	220	34	0	0	Direto
6	MRSA	0	1	60	80	6	245	112	0	0	Indi-reto
7	MRSA	0	1	90	80	7	134	10	2	0	Direto
8	MRSA	0	1	90	80	8	112	17	3	0	Indi-reto
9	MRSA	80	0	30	80	9	43	14	0	0	Direto
10	MRSA	80	0	30	80	10	112	15	3	0	Indi-reto
11	MRSA	0	1	90	80	11	86	12	0	0	Direto
12	MRSA	0	1	90	80	12	136	54	0	0	Indi-reto

EXEMPLO 11

- Bactérias de teste, a saber, *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa* (PAU); *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA); *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE); foram preparadas conforme a descrição para os experimentos anteriores (vide o Exemplo 1 para a preparação de bactérias aeróbicas, o Exemplo 9 para a preparação de *C. difficile*). *Bacillus subtilis* (o substituto para o antrax) foi
- 10 preparado analogamente à preparação de *C. difficile*, salvo que as bactérias foram cultivadas em placas de ágar Columbia com sangue de ovelha incubado por 18 - 24 horas ao ar ambiente a 35°C. Elas foram cultivadas separadamente em placas por 24 horas. A partir da placa, 4-5 colônias isoladas foram

selecionadas, e suspensas em NaCl 0,85 para obter um padrão de turvação de 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml) medido com o uso de um espectrofotômetro. O inóculo foi preparado realizando diversas diluições em série de 0,9 ml de caldo de NaCl a 0,85 com 0,1ml do inóculo original de McFarland a 0,5 (6x10 vezes) para produzir soluções de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} ufc/mL. Os organismos foram plaqueados em três repetições, como previamente descrito, onde 0,1 ml de cada solução foram espalhados sobre a superfície de ágar Columbia com sangue de ovelha (para as bactérias aeróbicas) ou placas de ágar-sangue anaeróbico de *Brucella* (para *C. difficile* e *B. subtilis*) sobre as placas, ou sobre placas de aço inoxidável. Em ágar, as bactérias conservam o modo planctônico. Nas placas de aço, os biofilmes contêm a forma das bactérias.

Para os experimentos em placas de aço, 40 microlitros do inóculo original como preparado acima foram colocados sobre a superfície de uma série de discos de aço inoxidável com 1 cm de diâmetro. Foram deixados a secar em um gabinete de segurança biológica por aproximadamente 45 minutos até que os pontos de inóculo estivessem secos. Os discos de aço foram colocados em uma placa de Petri estéril para facilitar sua transferência à câmara de teste. Uma vez secos, a tampa da placa de Petri foi colocada sobre os discos, e foram cuidadosamente transferidos ao local de tratamento onde eram expostos às condições de teste com ozônio. Um número apropriado de discos de controle permanecia coberto no gabinete de segurança biológica, não sendo expostos às condições de teste com ozônio.

Algumas das placas foram submetidas à exposição de ozônio/oxigênio utilizando ozônio a 80 ppm, 42 - 80% de umidade e temperatura ambiente a aproximadamente 22°C, por um período de 90 minutos, no aparelho ilustrado, como controles. Controles adicionais não receberam qualquer tratamento com ozônio ou peróxido de hidrogênio, mas foram preparados e expostos do mesmo modo.

Com referência à figura 4, as placas de teste foram montadas dentro da câmara de desinfecção 60, e tratadas com ozônio e vapor d'água como previamente descrito, mas utilizando adicionalmente peróxido de hi-

drogênio suprido como um vapor à câmara através da porta 65. A câmara de desinfecção 60 também continha o mesmo sistema de aquecedor/resfriador e sensores já descritos.

As placas tratadas de acordo com a invenção foram expostas a
5 80 ppm de ozônio e peróxido de hidrogênio gasoso a partir de uma solução aquosa a 1% ou a 3%, sendo o ar soprado através da solução aquosa no aparelho ilustrado para criar o peróxido de hidrogênio gasoso. Outras condições e tempos de exposição foram mantidos de modo idêntico.

Imediatamente após a exposição às condições de teste, e de
10 modo similar aos discos de controle não expostos, os discos de aço inoxidável foram vigorosamente misturados em 10 ml de solução salina estéril a 0,85% utilizando um misturador por turbilhonamento em alta velocidade por 60 segundos para descartar por eluição todas as bactérias ou esporos viáveis sobreviventes. A suspensão eluída, contendo bactérias vivas e mortas,
15 é diluída serialmente 10 vezes em solução salina estéril a 0,85% e as bactérias diluídas foram quantitativamente plaqueadas em placas de ágar Columbia com sangue de ovelha para as bactérias aeróbicas ou placas de ágar-sangue anaeróbico de *Brucella* para *C. difficile*, incubadas sob condições apropriadas, em três repetições para determinar a concentração do inóculo
20 original. As contagens da colônia sobrevivente foram logaritmicamente transformadas e a média geométrica calculada. A diferença entre as contagens de bactéria dos controles não expostos e dos discos de teste expostos produziram a redução logarítmica nas bactérias sob as condições de teste. Se este procedimento resultasse na ausência de crescimento, 100% das bactérias
25 contidas no biofilme teriam sido exterminadas pela exposição ao ozônio/peróxido de hidrogênio.

As placas de ágar após a exposição foram cultivadas em uma incubadora por 24 horas. As placas foram então coloridas, examinadas em um microscópio, e os números de unidades formadoras de colônia em cada
30 placa foram contabilizados.

Os resultados estão divulgados no quadro 2 abaixo, como reduções de 10 vezes em bactérias vivas na placa de ágar ou na placa de aço,

em comparação à placa de partida antes de qualquer exposição. Portanto, um valor de 1 significa 10 vezes ou uma redução de um log em relação às amostras de controle, o que não é considerado um efeito significativo. Um valor de 5 significa que um log de 5 ou uma redução de 99,999% em bactérias vivas foi obtido, o suficiente para ser denominado "desinfecção total", em termos práticos. Um valor de 6 significa que um log de 6 ou uma redução de 99,9999% em bactérias vivas foi obtido, o que é definido internacionalmente (CDC) como "esterilização". As cepas bacterianas estavam de acordo com os relatos dos experimentos anteriores. O *Bacillus subtilis* se originou de esporos de ATCC 19659.

TABELA 2

<u>Bactérias</u>	80ppm de Ozônio isoladamente		H ₂ O ₂ 3% isoladamente		80 ppm de Ozônio + 1% de H ₂ O ₂
	Ágar	Aço	ágar	aço	aço
<i>C. difficile</i>	4,5	2,5-3,0	1,5	1,00	6,5+
MRSA	4,5	5,0	1,5	1,5	7,0+
<i>E. coli</i>	4,0	3,5	2,0	1,0	7,0
VRE	4,5	3,5	1,0	1,0	6,5
PAU	4,0	3,0	2,0	0,5	7,0
Bacillus Sub			1,0	1,0	7,0+

EXEMPLO 12

Os Quadros 3, 4, 5, 6, 7 e 8 abaixo fornecem um resumo dos experimentos, e com isso as combinações de ozônio, H₂O₂, umidade e tempo de exposição foram avaliados em termos da capacidade de eliminar as seguintes bactérias quando artificialmente aplicadas como um biofilme em superfícies não porosas, como discos de aço inoxidável: *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa* (PAU); *Bacillus subtilis* (o substituto do antrax). *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE); e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), as mesmas cepas anteriores.

Os discos de aço para teste e as placas de ágar para teste foram preparadas, expostas e testadas conforme descrição no Exemplo ante-

rior, as condições de exposição são mostradas nos quadros abaixo. Em alguns casos, indicado como "câmara", os testes foram conduzidos conforme a descrição no Exemplo 10 e com um aparelho em geral conforme ilustrado na figura 4. Em outros casos indicados como "recinto", os testes foram conduzidos expondo os discos e as placas em um recinto fechado, como ilustrado de modo geral na figura 1.

Os quadros de resultados adiante relatam ainda um período de pós exposição (PEEP), em minutos, que é o intervalo de tempo entre o término da exposição ao ozônio/peróxido e o início do procedimento para determinação dos resultados. Isso simula a prática real de desinfecção de recintos hospitalares e de ambientes similares, onde as bactérias, após o tratamento desinfetante, morrem ao longo de um período de tempo. Para permitir isso, é preferível que tenham decorrido pelo menos 25 minutos do término do tempo de exposição do ozônio/peróxido de hidrogênio antes do recinto desinfetado retornar ao serviço normal.

Tabela 3 - E. coli

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Escherichia coli - ATCC								
2		Material	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade %	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log 10 VERMELHO
3		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5,99
4		Aço	80	1	80-85	60	90	Câmara	5,99
5		Aço	80	1	80-85	45	90	Câmara	5,99
6		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	5,99
7		Aço	80	1	80-85	60	0	Recinto	6,02
8		Aço	80	1	80-85	25	0	Câmara	6,8
9		Aço	80	1	80-85	35	0	Câmara	6,8
10		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	6,8
11		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	6,8

Quadro 4 - Pseudo

	B	C	D	E	F	G	H	I	
1									
2		Material	O3(PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 RED
3		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5.01
4		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5.01
5		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5.01

Quadro 4 - *Pseudo* (continuação)

		B	C	D	E	F	G	H	I
		Material	O3(PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 RED
6		Aço	80	1	80-85	25	0	Câmara	7.36
7		Aço	80	1	80-85	35	0	Câmara	7.36
8		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	7.36
9		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	7.36
10		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	6.35
11		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	6.35
12		Aço	80	1	80-85	90	0	Câmara	6.35

Quadro 5 - *Bacillus subtilis*

		B	C	D	E	F	G	H	I
1									
		Material	O3(PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
2		Aço	80	0,5	80-85	90	90	Câmara	0,5
3		Aço	80	1	80-85	90	0	Câmara	0,1
4		Aço	80	3	80-85	90	0	Câmara	7,23
5		Aço	0	3	80-85	90	90	Câmara	0
6		Aço	0	3	80-85	90	90	Câmara	0

Quadro 5 - *Bacillus subtilis*
(continuação)

	B	C	D	E	F	G	H	I
<i>Bacillus subtilis</i>								
	Material	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
7	Aço	80	3	80-85	90	90	Câmara	7,23
8	Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	7,23
9	Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	4,61
10	Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	4,61
11	Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	4,61
12	Aço	80	1	80-85	90	90	Recinto	6,6
13	Aço	80	3	80-85	90	90	Recinto	6,6
14	Aço	80	3	80-85	90	0	Recinto	6,6
15	Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	6,34
16	Aço	80	3	80-85	90	90	Câmara	6,34
17	Aço	80	3	80-85	90	0	Câmara	6,34

Quadro 6 - C. diff

	A	B	C	D	E	F	G	H	
1									
2									
3		Aço	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./ Recinto	Log10 VERMELHO
4		Aço							
5		Aço							
6		Aço							
7		Aço							
8		Aço							
9		Aço							
10		Aço							
11		Aço							
12		Aço							
13		Aço							
14		Aço							
15		Aço							
16		Aço							
17		Aço							

Clostridium difficile - ATCC

Quadro 6 - C. diff (continuação)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Clostridium difficile - ATCC								
2		Material	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./ Recinto	Log10 VERMELHO
18		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	7,9
19		Aço	80	1	80-85	90	0	Câmara	7,9

Quadro 7 - VRE

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Enterococcus Resistente à Vancomicina- ATCC								
2		Material	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
3		Aço	400	0	80	90	90	Câmara	1,19
4		Aço	80	0	80	90	90	Câmara	0,66
5		Aço	80	0	65	90	90	Câmara	1,44
6		Aço	130	0	65	90	90	Câmara	0,22
7		Aço	130	0	65	90	90	Câmara	1,08
8		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5,74
9		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5,74
10		Aço	80	1	80-85	90	90	Câmara	5,74

Quadro 7 - VRE (continuação)

		B	C	D	E	F	G	H	I
1		Enterococcus Resistente à Vancomicina- ATCC							
2		Material	O3(PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
11		Aço	80	1	80-85	90	90	Recinto	5,96
12		Aço	80	1	80-85	60	90	Recinto	5,96
13		Aço	80	1	80-85	45	90	Recinto	5,96
14		Aço	80	1	80-85	45	0	Recinto	5,96
15		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	6,08
16		Aço	80	1	80-85	25	0	Câmara	5,8
17		Aço	80	1	80-85	35	0	Câmara	5,8
18		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	5,8
19		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	5,8

Quadro 8 - MRSA

		B	C	D	E	F	G	H	I
1		MRSA - ATCC 33952							
2		Material	O3(PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
3		Aço	400	0	80	90	90	Câmara	1,223

Quadro 8 - MRSA
(continuação)

		B	C	D	E	F	G	H	I
		MRSA - ATCC 33952							
		Material	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
4		Aço	80	0	80	90	90	Câmara	0,83
5		Aço	80	0	65	90	90	Câmara	1,44
6		Aço	130	0	65	90	90	Câmara	0,22
7		Aço	130	0	65	90	90	Câmara	1,08
8		Ágar	>1000	0	80	90	90	Câmara	5,15
9		Ágar	80	0	80	90	90	Câmara	4,899
10		Ágar	130	0	?	90	90	Câmara	4,695
11		Aço	80	0	60-70	90	90	Câmara	0,49
12		Aço	180	0	80	90	90	Câmara	0,66
13		Aço	500	0	80	90	90	Câmara	6,73
14		Aço	180	0	80-85	90	0	Câmara	0,99
15		Aço	180	0	80-85	90	90	Câmara	6,23

Quadro 8 - MRSA
(continuação)

		B	C	D	E	F	G	H	I
		MRSA - ATCC 33952							
		Material	O ₃ (PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
16		Aço	500	0	80-85	90	90	Câmara	6,23
17		Aço	50	0	80-85	90	0	Câmara	0,97
18		Aço	50	0	80-85	90	90	Câmara	1,03
19		Aço	80	0	80-85	90	0	Câmara	1,04
20		Aço	80	0	80-85	90	90	Câmara	1,52
21		Aço	120	0	80-85	90	0	Câmara	0,81
22		Aço	120	0	80-85	90	90	Câmara	0,99
23		Aço	180	0	80-85	90	0	Câmara	0,62
24		Aço	180	0	80-85	90	90	Câmara	1,51-6,5 ?
25		Aço	80	0	80-85	90	90	Câmara	1,32-6,53
26		Aço	80	3	80-85	90	90	Câmara	6,53
27		Aço	180	3	80-85	90	90	Câmara	6,53

Quadro 8 - MRSA
(continuação)

		B	C	D	E	F	G	H	I
		MRSA - ATCC 33952							
		Material	O3(ppm)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
40		Aço	80	1	80-85	25	0	Câmara	6,7
41		Aço	80	1	80-85	35	0	Câmara	6,7
42		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	6,7
43		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	6,7
44		Aço	80	1	80-85	45	0	Câmara	8,11
45		Aço	80	1	80-85	60	0	Câmara	8,11
46		Aço	80	1	80-85	90	0	Câmara	8,11
47		Aço	80	0,2	45	30	0	Câmara	0,128
48		Aço	80	0,2	45	60	0	Câmara	1,169
49		Aço	80	0,2	45	90	0	Câmara	1,29
50		Aço	80	0,2	60	30	0	Câmara	0,04
51		Aço	80	0,2	60	60	0	Câmara	0,987

Quadro 8 - MRSA
(continuação)

		B	C	D	E	F	G	H	I
52		Aço	80	0,2	60	90	0	Câmara	Log10 VERMELHO 1,86
53		Aço	80	0,2	80	30	0	Câmara	1,4
54		Aço	80	0,2	80	60	0	Câmara	2,4
55		Aço	80	0,2	80	90	0	Câmara	8,452
56		Aço	80	1	60	30	0	Câmara	1,049
57		Aço	80	1	60	60	0	Câmara	2,505
58		Aço	80	1	60	90	0	Câmara	8,452
59		Aço	80	1	80	30	0	Câmara	7,37
60		Aço	80	1	80	60	0	Câmara	7,37
61		Aço	80	1	80	90	0	Câmara	7,37
62		Aço	80	3	45	30	0	Câmara	0,849
63		Aço	80	3	45	60	0	Câmara	2,57

Quadro 8 - MRSA
(continuação)

	B	C	D	E	F	G	H	
	MRSA - ATCC 33952							
	Material	O3(PPM)	H ₂ O ₂ %	Umidade%	Exp.	PEEP	Câm./Recinto	Log10 VERMELHO
64	Aço	80	3	45	90	0	Câmara	8,086
65	Aço	80	3	60	30	0	Câmara	1,87
66	Aço	80	3	60	90	0	Câmara	8,086
67	Aço	80	3	80	30	0	Câmara	7,37
68	Aço	80	3	80	60	0	Câmara	7,37
69	Aço	80	3	80	90	0	Câmara	7,37

Os achados com relação ao *Bacillus subtilis* indicam claramente que 80 ppm de ozônio, H₂O₂ a 1% com 80% de umidade relativa produz uma redução de log de 6 (+) quando estes esporos aeróbicos são expostos por 90 minutos. Dada a singularidades destas bactérias e o fato de que são rotineiramente utilizados como substituto ao antrax, a combinação dos parâmetros de tratamento acima produzem este dispositivo altamente eficaz em um cenário de contramedidas ao bioterrorismo.

Os achados com relação à *Pseudomonas aeruginosa* mostram definitivamente que 80 ppm de ozônio, H₂O₂ a 1% com 80% de umidade relativa com um tempo de exposição de 25 minutos produz uma exterminação de 100% (7 + logs). Achados semelhantes foram observados quando biofilmes de amostras de *E. coli* nos discos de aço inoxidável foram expostos por 25 minutos em uma combinação de 80 ppm de ozônio, H₂O₂ a 1% em uma umidade relativa de 80%.

Em relação ao *Clostridium difficile* e à *Enterococcus* resistente à vancomicina, a mesma combinação de 80 ppm de ozônio, H₂O₂ a 1% e 80% de umidade relativa demonstrou ser altamente eficaz em alcançar 100% de eliminação das bactérias em biofilmes colocados sobre uma superfície de aço inoxidável e exposta por 45 minutos.

Os resultados sintetizados no quadro 8 acima demonstram claramente que a mesma combinação de 80 ppm de ozônio, H₂O₂ a 1% e 80% de umidade relativa alcança 100% de exterminação (redução de log 6+) quando biofilmes de MRSA foram expostos por 30 minutos.

Conclusão

Os dados fornecidos nos quadros anteriores demonstram claramente que o processo de acordo com a invenção é capaz de eliminar completamente as bactérias contidas em preparações de biofilme em uma superfície endurecida não porosa, como o aço inoxidável. Muito embora sejam necessários pequenos ajustes no tempo de exposição para os patógenos comuns encontrados no âmbito hospitalar (25 - 45 minutos), o *Bacillus subtilis* e, portanto, seu primo antrax, requer praticamente duas vezes o tempo de exposição, mas estes patógenos são de pouca relevância para hospitais.

Portanto, um aspecto da invenção é um processo para desinfetar um recinto, que compreende introduzir no recinto uma mistura gasosa de oxigênio/ozônio, elevar a pressão no interior do recinto acima da pressão atmosférica, agitar fisicamente as superfícies fibrosas e porosas no interior do recinto enquanto as superfícies são expostas à atmosfera contendo ozônio em umidade relativa pelo menos 65%, retornar o recinto à pressão atmosférica, e remover o ozônio residual da atmosfera do recinto, até um nível máximo de 0,04 ppm.

Outro aspecto da invenção é um sistema portátil para desinfetar recintos e as superfícies do mesmo com ozônio, que compreende um recipiente de oxigênio, um gerador de ozônio abastecido com oxigênio de graduação médica proveniente do recipiente de oxigênio e descarregar uma mistura de oxigênio e ozônio, um controlador de ozônio adaptado para controlar a proporção de ozônio na mistura de oxigênio e ozônio, um tubo de descarga para receber a mistura de oxigênio e ozônio a partir do gerador de ozônio, o tubo de descarga tendo uma extremidade de saída, um sistema de agitação física na extremidade de saída do tubo de descarga, para agitação física de superfícies com a mistura de oxigênio/ozônio emitida pelo mesmo, meio de ajuste de pressão conectado ao gerador de ozônio disposto para ajustar a pressão da mistura de oxigênio/ozônio descarregada pelo sistema de agitação física e a pressão do gás oxigênio/ozônio no recinto em tratamento, meio de ajuste de temperatura conectado ao gerador de ozônio e disposto para ajustar a temperatura da mistura de oxigênio/ozônio descarregada pelo sistema de agitação física, meio de ajuste de umidade adaptado para umidificar o local de tratamento a uma umidade relativa não inferior a 65%, e um removedor de ozônio adaptado para receber a mistura de oxigênio/ozônio do ambiente de uso do tubo de descarga e para remover o ozônio da mistura.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para combater bactérias em um espaço confinado dentro de um recinto em biofilme sobre as superfícies dentro do recinto, **caracterizado** pelo fato de que o processo compreende:

5 criar no recinto uma atmosfera desinfetante que inclui ozônio em uma concentração de 2 - 350 ppm em peso e peróxido de hidrogênio em uma quantidade de 0,2 - 10 por cento em peso, em uma umidade relativa de pelo menos 60%, onde dita quantidade de peróxido de hidrogênio é derivada de uma solução fornecida de 0,2 - 10 por cento de peróxido de hidrogênio;

10 expor as superfícies portadoras do biofilme contendo bactérias vivas no mesmo à dita atmosfera desinfetante por um período de tempo efetivo para causar a exterminação substancial, por pelo menos uma redução de log de 5, das bactérias no biofilme, o período de tempo sendo pelo menos de 30 minutos;

15 e em seguida remover o ozônio da atmosfera, até um nível igual ou inferior a 0,04 ppm.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o tempo de exposição é de 30 minutos a 120 minutos, ou de 60 a 105 minutos, ou 90 minutos.

20 3. Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que a quantidade de ozônio na atmosfera de gás de tratamento é de 20 a 350 ppm, 20 a 200 ppm, ou 20 a 90 ppm, ou 35 a 80 ppm.

25 4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que a quantidade de peróxido de hidrogênio na atmosfera desinfetante é de 1 - 5% e é derivada de uma solução fornecida de 0,2 - 10 por cento de peróxido de hidrogênio.

5. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de que a temperatura da atmosfera desinfetante é de 15 - 30 graus C.

30 6. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pelo fato de que as bactérias que estão sendo combatidas são *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*;

Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA); *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE); ou combinações de duas ou mais das ditas bactérias.

7. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado** pelo fato de inclui a etapa adicional de submeter superfícies fibrosas e porosas dentro do recinto à agitação física enquanto expostas à atmosfera desinfetante, opcionalmente em que a agitação física é conduzida com aplicação de cerdas, ainda opcionalmente, em que a agitação física é conduzida com aplicação de jatos de pressão de ar, e ainda opcionalmente, em que a agitação física é conduzida com aplicação de energia ultrassônica, energia de radiofrequência ou ondas eletromagnéticas, capazes de causar ruptura física.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizado** pelo fato de que as superfícies portadoras de biofilme são expostas à corrente localizada da atmosfera desinfetante.

9. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que a pressão da atmosfera desinfetante quando as superfícies portadoras de biofilme são expostas à mesma está acima da pressão atmosférica, preferivelmente de 101,35 a 689,48 kPa (14,7 a 100 psi).

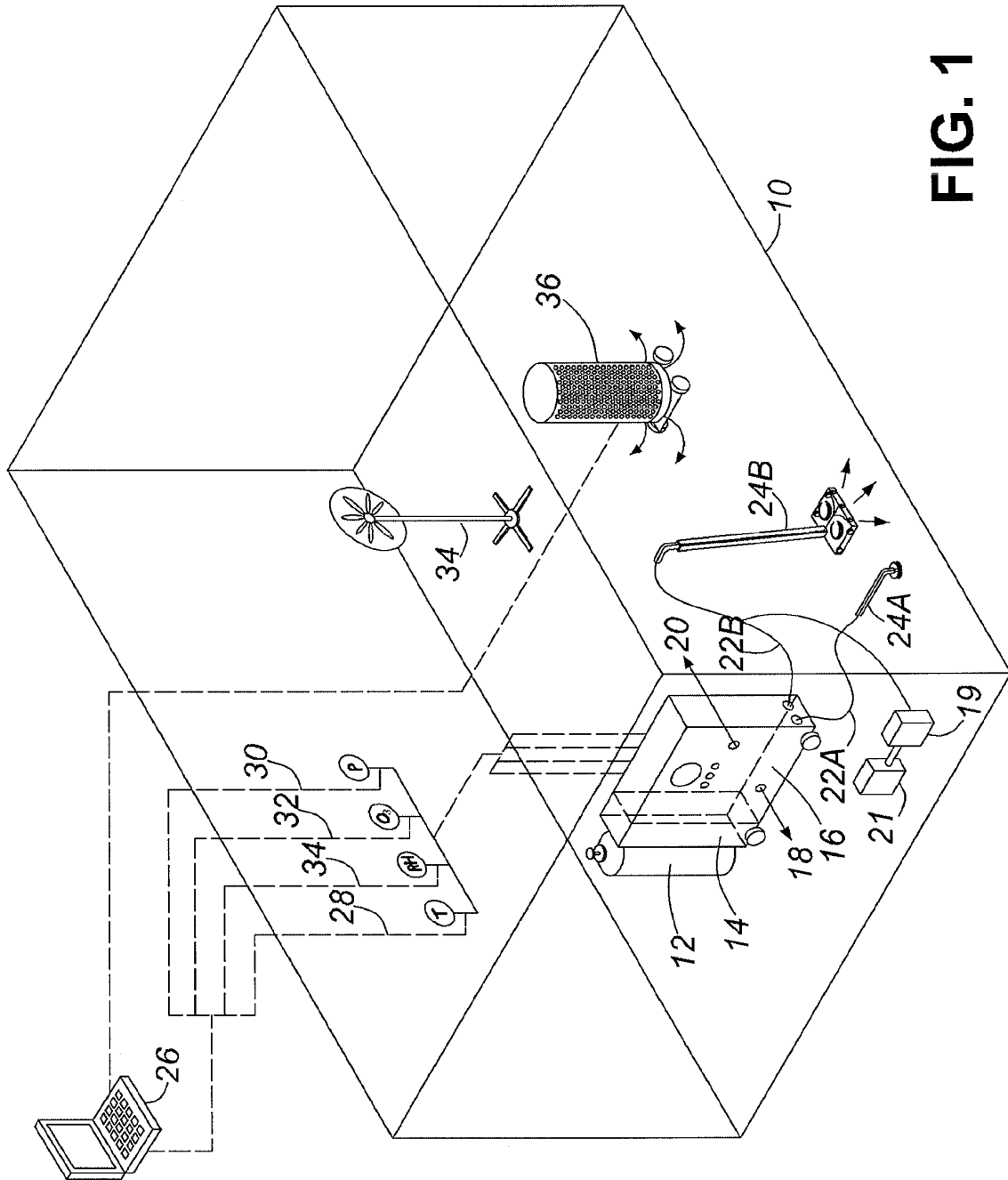


FIG. 1

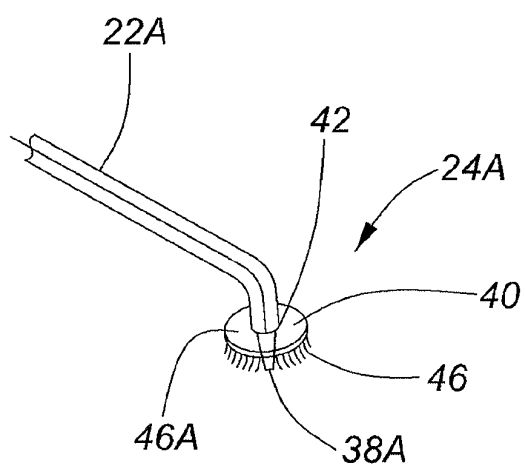


FIG. 2A

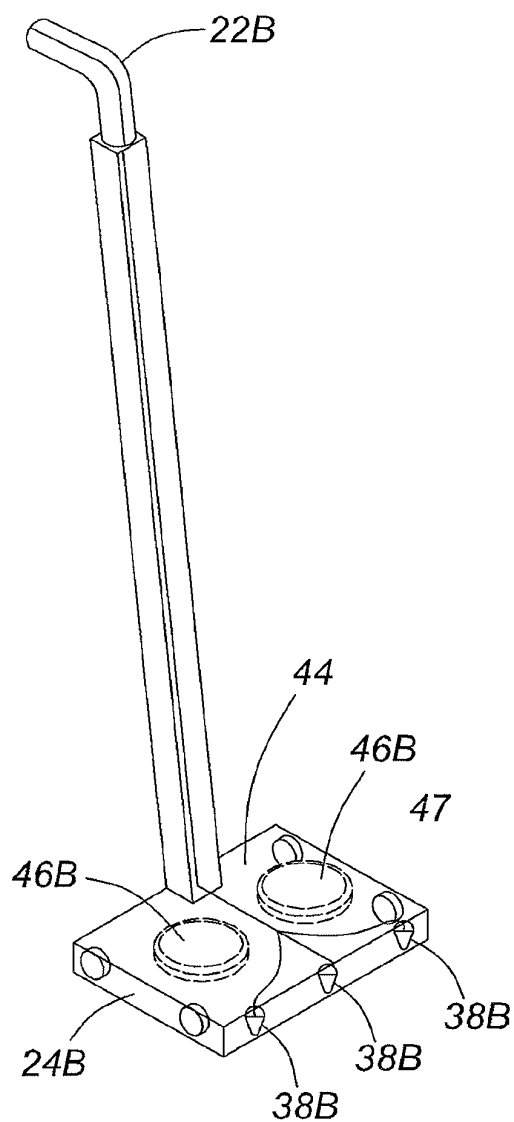


FIG. 2B

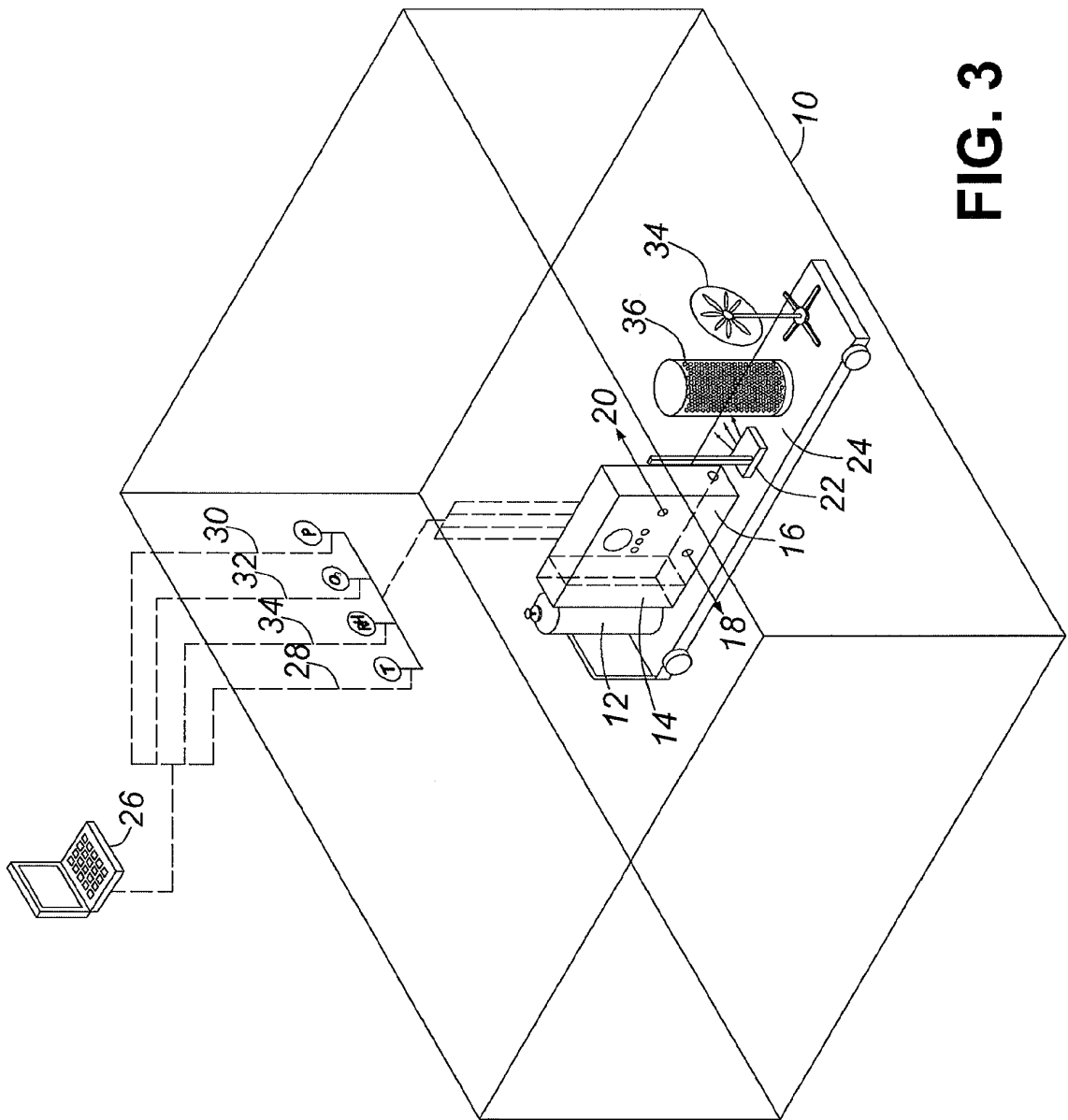


FIG. 3

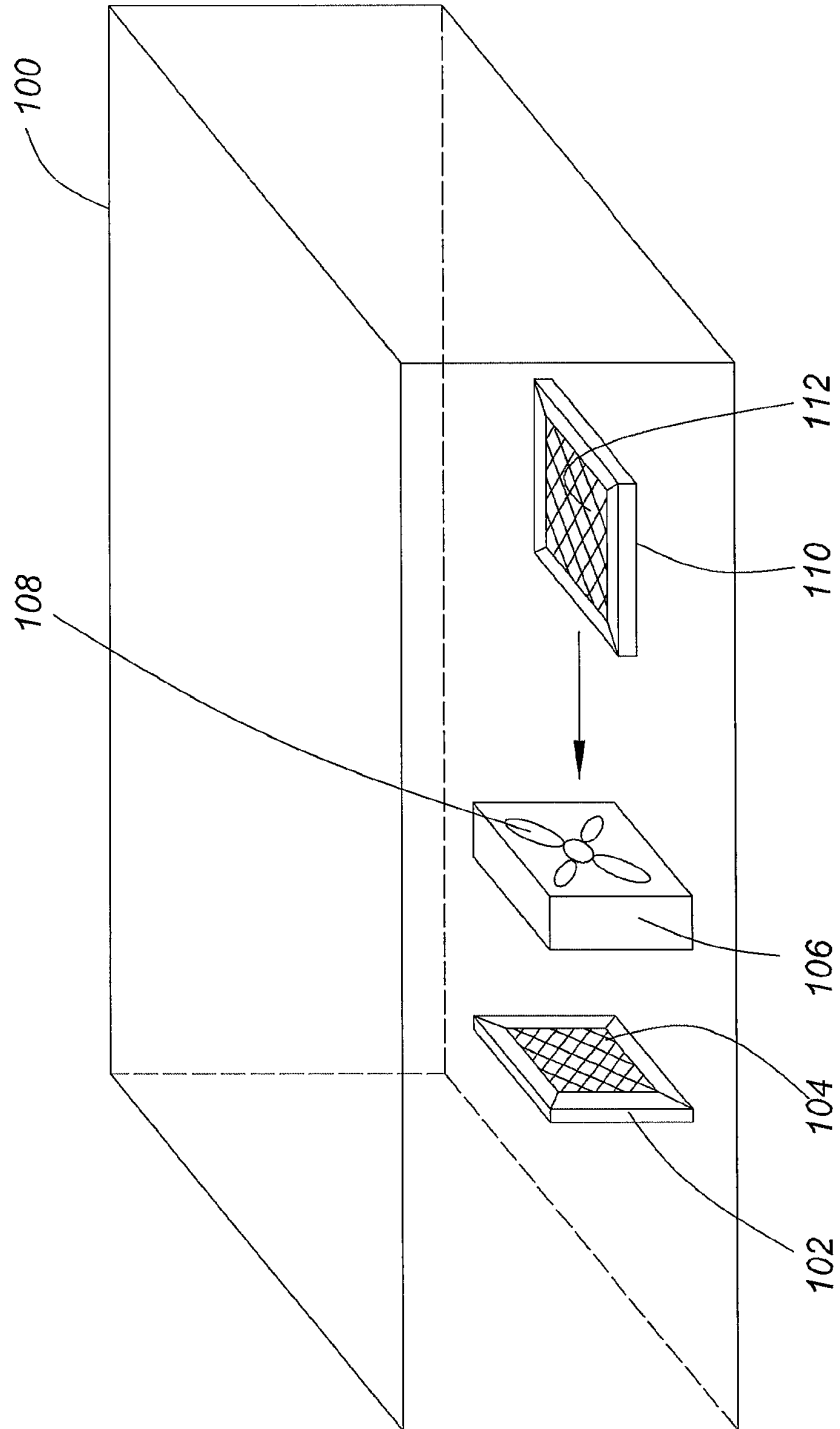


FIG. 5

RESUMO

Patente de Invenção: "PROCESSO E SISTEMA DE DESINFECÇÃO DE INSTALAÇÃO DESTINADA AOS CUIDADOS COM A SAÚDE COM MISTURA DE OXIGÊNIO/OZÔNIO".

5 A presente invenção refere-se a um sistema e processo para desinfecção de recintos, como recintos de instalações para cuidados com a saúde com uma mistura de oxigênio/ozônio, que seja eficaz no combate aos "superbugs", como *Clostridium difficile* (*C. difficile*); *E. coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA); e *Enterococcus* resistente à vancomicina (VRE). Nas modalidades preferenciais, peróxido de hidrogênio é adicionalmente utilizado. O sistema e processo é eficaz para destruir bactérias depositadas sobre superfícies como biofilmes, e, acompanhados da agitação física, tais como saídas de bico de jato é eficaz na desinfecção de tapetes, drapeados e superfície porosas e absorven-

10

15 tes similares.