



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Maicon Henrique Caetano

**Água ozonizada – Estudo de atividade antimicrobiana contra
patógenos hospitalares**

São José do Rio Preto
2022

Maicon Henrique Caetano

Água ozonizada – Estudo de atividade antimicrobiana contra patógenos hospitalares

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Margarete Teresa
Gottardo de Almeida

Coorientador: Prof. Dr. Adriano Menis Ferreira

São José do Rio Preto
2022

C128a

Caetano, Maicon Henrique

Água ozonizada - Estudo de atividade antimicrobiana contra patógenos hospitalares / Maicon Henrique Caetano. -- São José do Rio Preto, 2022

56 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Margarete Teresa Gottardo de Almeida

Coorientador: Adriano Menis Ferreira

1. Água ozonizada. 2. Patógenos hospitalares. 3. Ação antimicrobiana. 4. Desinfecção. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Maicon Henrique Caetano

**Água ozonizada – Estudo de atividade antimicrobiana contra
patógenos hospitalares**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Margarete Teresa Gottardo de Almeida
FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Orientador

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Scroferneker
UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^a. Dr^a. Viviane Decicera Colombo Oliveira
FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Marcelo Alessandro Rigotti
UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Wilfredo Milquiades Irrazabal Urruchi

São José do Rio Preto
19 de agosto de 2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe Rosemeire Conceição do Bem Caetano, à minha irmã Emanuely Caetano e à minha avó, Alzira Conceição Teixeira do Bem, pelo incentivo, apoio e preces a mim direcionadas. Obrigado por acreditarem em meu potencial e estarem felizes por eu ter chegado até aqui. Ao meu querido pai Manoel Aparecido Caetano (*in memoriam*) que sempre torceu e me acompanhou em todos os momentos, um exemplo de homem, uma pessoa iluminada e que faz muita falta. Ao meu querido avô José do Bem Filho (*in memoriam*) que sempre acreditou em mim e sempre disse que eu seria um Doutor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo ingresso e conclusão deste trabalho. Por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia. Obrigado, meu Deus, por me dares muito mais do que eu preciso, e por me abençoares muito mais do que eu mereço.

Aos meus pais Rosemeire Conceição do Bem Caetano e Manoel Aparecido Caetano (in memoriam), que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida, pois sem eles este trabalho e muito dos meus sonhos não se realizariam. Não é só pela vida que vocês me deram que eu devo agradecer. É também por me ensinarem todos os valores que achavam importantes e por me tornarem a pessoa que sou hoje. À minha irmã do coração Emanuely Caetano, que me ama muito e por sempre estar do meu lado. À minha Vó Alzira Conceição Teixeira do Bem, que sempre ajudou e me acompanhou em todos os momentos da minha vida. Sempre torcendo e vibrando com as minhas conquistas. Sem ela este trabalho não seria possível. Amo vocês!

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Margarete Teresa Gottardo de Almeida, primeiramente pela oportunidade, confiança e ter acreditado que eu seria capaz de realizar este projeto. Agradeço também por tudo que me ensinou, pela paciência, dedicação, carinho e por mostrar-se sempre disposta a me ajudar. Obrigado pelos conselhos, amizade e por fazer parte do meu crescimento pessoal e profissional. Para mim você é uma inspiração e um grande exemplo de vida, foi muito bom trabalhar ao seu lado. Você foi mais que uma orientadora, foi uma mãe, uma amiga. Muito obrigado do fundo do meu coração!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Adriano Menis Ferreira, que foi fundamental na realização deste trabalho, sempre ajudando, dando conselhos e dicas para o meu crescimento profissional e pessoal. Muito obrigado!

À Emília Cristina Gianizella e Thiago Henrique Lemes, duas pessoas especiais, que eu conheci no laboratório e tornaram-se grandes amigos, irmãos, parceiros, formando um trio. Agradeço a amizade de vocês, os conselhos, conversas e ótimos momentos juntos, por me aturar, sempre me ajudar e estar do meu lado em todos os momentos.

Aos meus queridos amigos e companheiros do laboratório, uma segunda família: Natalia Seron Brizzotti, Emília Cristina Gianizella, Thiago Henrique Lemes, Luceli Ferreira de Souza, Mariela Domiciano Ribeiro, Bianca Gottardo de Almeida, João Paulo Zen Siqueira, Taiza Maschio de Lima, Letícia de Queiroz Mozaner, Veridiana Camilo Pattini, Letícia Monteiro Bianco, Elza Maria Castilho e Cleuzenir Toschi Gomes Barbieri, pela amizade de vocês, carinho, parceria e ajuda. Obrigado pelos ótimos momentos de descontração durante todo esse tempo! Vocês moram no meu coração!

Aos professores Dr. João Paulo Zen Siqueira e Dr^a. Cátia Rezende por participarem da banca examinadora de qualificação, contribuindo com a melhoria deste projeto.

Aos membros da comissão examinadora deste trabalho, Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Scroferneker, Prof^a. Dr^a. Viviane Decicera Colombo Oliveira, Prof. Dr. Marcelo Alessandro Rigotti e Prof. Dr. Wilfredo Milquiades Irrazabal Urruchi, por terem aceitado o convite e por dispensarem seu tempo na correção deste trabalho, agregando experiência e conhecimento ao mesmo.

Ao laboratório de Microbiologia e à FAMERP, pela infraestrutura de ensino e pesquisa, essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, professores, coordenadores e equipe técnica, pela disponibilidade, dedicação aos alunos e prontidão em esclarecer todas as dúvidas.

À CAPES – Código de Financiamento 001, pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos os meus amigos, colegas e professores que não foram citados, mas que fizeram parte da minha formação e acreditaram em meu potencial.

Meus sinceros agradecimentos!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther king

RESUMO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) representam um grave problema de saúde pública, por aumentar as taxas de morbidade, mortalidade e os custos. Microrganismos potencialmente patogênicos, principalmente os multirresistentes aos antimicrobianos podem estar presentes em superfícies hospitalares, aumentando ainda mais os riscos de infecções. É imprescindível a busca por novos processos de desinfecção em serviços de saúde. A água ozonizada pode elevar os padrões de qualidade das superfícies por meio da redução da carga microbiana, atuando sobre os microrganismos através da oxidação de componentes estruturais da célula, especialmente das membranas celulares, provocando a sua destruição e decorrente morte celular. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia da atividade antimicrobiana da água ozonizada sobre microrganismos e na desinfecção de superfícies hospitalares. Para isto, foi utilizada uma torneira comercial como fonte de água ozonizada (0,6 ppm de ozônio). Frascos reagentes estéreis receberam 200 ml de água e 200 µl dos inóculos de microrganismos em concentração ajustada em espectrofotômetro, na escala 0,5 de McFarland. Posteriormente, 100 µl das amostras foram retirados, após 10 s, 30 s, 1 min e 2 min de contato com a água e plaqueadas em meio de cultura contendo *Brain Heart Infusion Agar* DIFCO® (BHI) para as bactérias e *Sabouraud Dextrose Agar* OXOID® (AS) para as leveduras e fungos filamentosos. As placas foram incubadas a 36,5°C com conseqüente avaliação quantitativa quanto ao número de unidades formadoras de colônias (UFCs). Para avaliar a eficácia da água ozonizada em um cenário real, cinco superfícies de 19 leitos de UTI, de um hospital terciário do interior do estado de São Paulo (mesa próxima ao leito, puxador da gaveta, monitor, bomba de infusão e lateral da cama) foram avaliadas quanto à presença de microrganismos. *Imprints* foram estabelecidos com placas RODAC™ (com inibidor do quaternário de amônio), em cada superfície, por meio de pressionamento, por 10 s, antes e após a limpeza com água ozonizada. Os resultados mostraram a eficácia da atividade antimicrobiana da água ozonizada contra bactérias e fungos, sendo eliminados a partir do tempo de 10 s. Para todas as superfícies analisadas houve redução significativa da carga microbiana, com percentuais de 78,8% a 98,7%, após a limpeza com a água ozonizada, quando comparadas com as placas controles. Este procedimento rápido, de fácil condução, poderá fazer parte dos protocolos de limpeza e desinfecção

hospitalar, uma vez que, microrganismos são eliminados rapidamente, principalmente das superfícies hospitalares.

Palavras-chave: Água ozonizada. Patógenos hospitalares. Ação antimicrobiana. Desinfecção.

ABSTRACT

Healthcare-associated infections (HAI) represent a major problem of public health, raising morbidity and mortality rates and associated costs. Potentially pathogenic microorganisms may be present in hospital surfaces, increasing infection risk. The constant search for alternative disinfection methods is essential in the healthcare setting. Ozonized water can raise the quality standards of surfaces by reducing their microbial load, causing oxidation of structural components of microorganisms, especially cell membranes, leading to their destruction and resulting in cell death. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial efficacy of ozonized water against bacteria and fungi and in the disinfection of hospital surfaces. For this purpose, a commercial faucet was used as the source of ozonized water (0.6 ppm of ozone). In sterile reagent bottles, it was added 200 ml of water and 200 µl of microorganism inoculum adjusted on a spectrophotometer to the 0.5 MacFarland standard. After 10 s, 30 s, 1 min, and 2 min of exposure to the ozonized water, 100 µl of the solution were inoculated in Brain-Heart Infusion agar (BHI, Difco®) or Sabouraud-Dextrose agar (SDA, Oxoid®), according to the type of microorganism (bacteria in BHI, yeast and filamentous fungi in SDA). The plates were incubated at 36.5 °C for quantitative analysis of colony forming units (CFU). To assess the efficacy of ozonized water on a real setting, five surfaces of 19 hospital beds of an intensive care unit of a tertiary hospital of the interior of São Paulo state were evaluated before and after ozonized water cleaning: table next to bed, drawer handle, monitor, infusion pump, and bedside rail. The presence of microbial contamination was determined by imprints of 10 seconds using Rodac plates® (with ammonium quaternary inhibitor), which were incubated at 36.5 °C for CFU counting. Results showed significant activity of ozonized water against bacteria and fungi, from 10 s of exposure. All surfaces analyzed also showed great reduction of microbial load after ozonized water cleaning (78.8% to 98.7% reduction, in comparison to control plates). This method proved to be fast and easy to carry out, and it could be included in hospital cleaning and disinfection protocols to improve microorganism reduction of surfaces.

Keywords: Ozonized water. Hospital pathogens. Antimicrobial activity. Disinfection.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Histórico-ozônio	16
2.2 Produção do ozônio	17
2.3 Propriedades físico-químicas do ozônio	18
2.4 Ação antimicrobiana do ozônio	20
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivos específicos	22
4 REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 2 – Artigo I	29
Resumo	30
Introdução	30
Materiais e Métodos	32
Resultados	34
Discussão	36
Conclusão	39
Referências	40
CAPÍTULO 3 – Artigo II	44
Resumo	45
Introdução	46
Método	47
Resultados	49
Discussão	50

Conclusão.....	51
Referências.....	52
CAPÍTULO 4.....	54
4 CONCLUSÕES.....	55

1 INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são um dos mais importantes problemas que impactam a qualidade de vida dos seres humanos e, por consequência, aos programas de política pública. IRAS compreendem quaisquer infecções adquiridas após a admissão do paciente e que se manifestam durante a internação ou após a alta hospitalar. Estes eventos, acarretam sérios problemas aos serviços de saúde, por altas taxas de morbidade, mortalidade, gastos com o tratamento, e, com a segurança dos pacientes (ZEHURI, SLOB, 2018; ANVISA, 2021).

Neste cenário, a multiplicidade de microrganismos com padrões biológicos complexos, isto é, virulência, resistência aos antimicrobianos, estão associados à condição dos pacientes, que pode apresentar graves patologias e muitas vezes imunossupressão. Aí, se apresenta o risco aumentado às IRAS, grande problemática mundial. No ambiente hospitalar, especialmente nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), os procedimentos invasivos são práticas frequentes, e acarretam novas possibilidades de colonização com consequente infecção por microrganismos oportunistas, bem como patógenos primários de importância clínica. (BORDIGNON, LIMA, 2017; RODRIGUES et al., 2018).

Os microrganismos podem colonizar ou infectar pacientes pós contato direto ou indireto com mucosas e superfícies corpóreas. Relatos científicos reiteram esta afirmativa, uma vez que, alguns patógenos, capazes de permanecer por longos períodos no ambiente hospitalar, são comumente transferidos de superfícies animadas ou inanimadas e, entram em contato com pacientes aumentando risco de infecção. Tem-se como exemplo, *Enterococcus* resistente à vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), identificados em superfícies de ambiente hospitalar, e como causa de doenças respiratórias ou sistêmicas. Apesar dos protocolos Institucionais de higiene e limpeza hospitalar, estes eventos estão presentes com alta frequência, e constituem riscos para a propagação de patógenos (ASSADIAN et al., 2021; LUCENA et al., 2022).

Inúmeras variáveis contribuem para o aumento de risco das IRAS, a saber: mãos dos profissionais de saúde, com higienização inadequada e, como meio comum de transmissão cruzada de microrganismos, os processos químicos e físicos de desinfecção inapropriados, a variação genética dos patógenos que se apresentam

cada vez mais resistentes, capacitando a sobrevivência em ambiente hostil, entre outros, (SOARES et al., 2019; LUCENA et al., 2022). Neste contexto, ressalta a importância de medidas de controle e prevenção de disseminação de microrganismos mais efetivas, e de novos protocolos de desinfecção, a fim de aprimorar os processos de limpeza e desinfecção.

Ressalta-se que a recomendação para a desinfecção de superfícies hospitalares consiste na limpeza prévia do local a ser desinfetado usando sabão ou detergente, com o auxílio de panos de mobília. Posteriormente a realização de fricção com álcool a 70% ou outro desinfetante estabelecido pelo serviço de controle de infecção hospitalar (SCIH) (ANVISA, 2020).

Nos últimos anos o uso do ozônio tornou-se evidente, por ser um potente agente oxidante utilizado em diversas áreas como controle antimicrobiano. O O_3 atua sobre os microrganismos, por meio da oxidação de constituintes celulares, especialmente das membranas, causando a sua destruição e consequente morte celular (MARTINS; KOZUSNY-ANDREANI; MENDES, 2015; TORMIN et al., 2016).

As propriedades antimicrobianas da água ozonizada têm sido demonstradas com excelentes resultados, com relatos de estudos na área de desinfecção de superfícies (LIMA et al., 2022), tratamentos endodônticos (CARDOSO; OLIVEIRA; KOGA-ITO; JORGE, 2008; GALLO, SCRIBANTE, 2021), em alimentos (SKOWRONK et al., 2019), tratamentos para água potável (SHIN et al., 2003; DEMIR et al., 2015) e na desinfecção das mãos, como alternativa aos desinfetantes tradicionais à base de álcool e líquidos (BREIDABLIK et al. 2019).

Desta maneira, a água ozonizada mostra-se um promissor composto para controle antimicrobiano. Com o crescente e preocupante aumento de microrganismos multirresistentes, em ambientes hospitalares, aos desinfetantes disponíveis no mercado, a utilização da água ozonizada apresenta-se como uma opção efetiva e de baixo custo. Contudo, são necessários mais estudos para demonstrar suas possibilidades e eventuais limitações de uso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico-ozônio

O ozônio foi descoberto em 1839 por Christian Friedrich Schonbein que estudava a decomposição eletrolítica da água e somente após duas décadas ficou evidentemente identificada à composição triatômica do ozônio, contendo apenas oxigênio (LAPOLLI et al., 2003). Em 1866, Meritens o reconheceu como potente desinfetante de água (LANGLAIS; RECKHOW; BRINK, 1991; LAPOLLI et al., 2003).

A aplicabilidade do ozônio em grande escala ocorreu pela primeira vez em 1893, no tratamento de água em Oudshoorn, na Holanda (LANGLAIS; RECKHOW; BRINK). Em 1897, o químico Marius Paul Otto criou a primeira companhia especializada na construção e instalação de equipamentos de ozonização, para este fim (LAPOLLI et al., 2003). Posterior a este momento, foram construídas plantas de tratamento de água em Paris, Nice e Chartres na França; Wiesbaden e Paderborn na Alemanha; Niagara, no estado de Nova York nos Estados Unidos; São Petesburgo, na antiga União Soviética e Madri, na Espanha (LANGLAIS; RECKHOW; BRINK, 1991). Desde então, o ozônio passou a ser utilizado na Europa, no tratamento de água para abastecimento público (GRAHAM, 1997; GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004).

Em 1982, o ozônio foi certificado como um produto seguro ("General Recognized As Safe" – GRAS") para o tratamento de água engarrafada pelo FDA (Food and Drug Administration) (GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999). Já na década de 90, os Estados Unidos assegura o ozônio como uma substância GRAS em produtos alimentícios, promovendo um crescimento dessa aplicação no processamento de alimentos (GRAHAM, 1997).

A partir de 1983 a ozonização passou a ser empregada no Brasil, como opção em relação às técnicas convencionais de pré-cloração e pré-aeração no tratamento de águas superficiais (LAPOLLI, et al., 2003).

Em 2006, foi fundada a Sociedade Brasileira de Ozonioterapia (ABOZ). A Ozonioterapia, um método que utiliza a mistura dos gases oxigênio e ozônio é empregado como agente terapêutico para o tratamento de inúmeras patologias, como queimaduras, problemas circulatórios, câncer, entre outros. A ABOZ trabalha para que

esta prática seja realizada de maneira legal, consciente, responsável e ética (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE OZONIOTERAPIA, 2022).

O uso de ozônio não exige registro de “Autorização de Uso” na indústria alimentícia como tratamento antimicrobiano, ou seja, na redução da carga microbiológica (ANVISA, 2020)

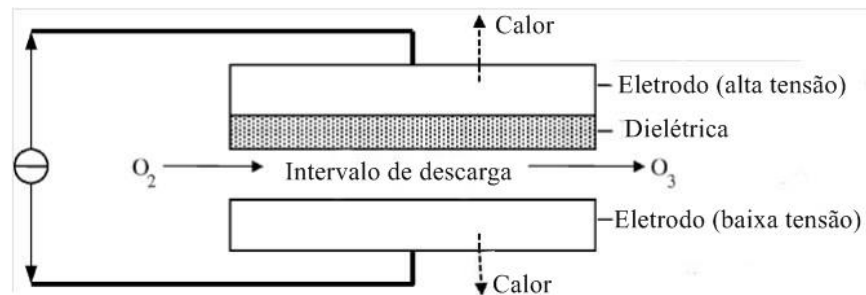
2.2 Produção do ozônio

Para a formação do ozônio, a reação é considerada altamente endotérmica e não espontânea, pois uma molécula de oxigênio é inicialmente dissociada e o oxigênio livre reage com outras moléculas de oxigênio, formando a molécula de ozônio, com grande gasto de energia (RUSSEL; HUGO; AVLIFE, 1999; USEPA, 1999; VIDAL, 2003).

A formação do ozônio ocorre espontaneamente em pequenas quantidades (0,05 mg/L), na estratosfera quando a radiação solar interage com a molécula de oxigênio. É produzido também uma pequena quantidade de ozônio na troposfera, decorrente de reações fotoquímicas entre hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio, provindo de indústrias, automóveis, florestas e ação vulcânica. Pelo contrário, o gás produzido assim, é instável e decompõe-se rapidamente (HORVÁTH; BILITZKY; HUNTER, 1985).

O ozônio pode ser produzido a partir de uma descarga eletroquímica, denominada como efeito corona (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999). O equipamento é composto por dois eletrodos, que são submetidos a diferentes potenciais de ação, e a passagem de ar ou oxigênio puro entre os dois eletrodos gera o O₃ (GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001;). É necessário que seja gerado no local que será destinado seu uso, em razão da instabilidade, pois ao entrar em contato com o ar, se dissocia rapidamente (LAPOLLI et al., 2003; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; USEPA, 1999). A figura 1 mostra o esquema de um gerador de ozônio pelo efeito corona.

Figura 1 – Geração do O_3 pelo método de descarga corona.



Fonte: Adaptado de Rice et al. (1981).

A formação do ozônio a partir do ar, em geral, depende de um pré-tratamento, que compreende: filtração, compressão, resfriamento e desumidificação. Ao contrário, quando gerado a partir do oxigênio puro, é necessário um tanque de oxigênio líquido, precedido de um evaporador (LAPOLLI et al., 2003).

2.3 Propriedades físico-químicas do ozônio

O ozônio é uma molécula composta por três átomos de oxigênio denominada triatômica (O_3), sendo considerado instável, parcialmente solúvel em água, de odor característico e penetrante (DI BERNARDO; DANTAS, 2005; LAPOLLI et al., 2003; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; SAINI, 2011). É detectado facilmente em temperatura ambiente, em concentrações baixíssimas (0,01 a 0,05 mg/L) e se apresenta como um gás incolor. Em concentrações mais elevadas, passa a ter uma coloração azulada (RICE et al., 1981; LANGLAIS; RECKHOW; BRINK, 1991; USEPA, 1999; LAPOLLI et al., 2003; SILVEIRA, 2004). Na tabela 1 estão registradas as principais propriedades físico-químicas do ozônio.

Tabela 1: Principais propriedades físico-químicas do ozônio.

Propriedades físico-químicas	
Massa molar	48 Da
Massa específica (0°C e 101,3 kPa)	2,154 kg/m ³
Ponto de ebulição	-111,9 ± 0,3 °C
Ponto de fusão	-192,5 ± 0,3 °C
Solubilidade em água a 0°C	20 g/m ³
Solubilidade em água a 30°C	1,5 g/m ³
Temperatura crítica	-12,1 °C
Pressão crítica	5,53 MPa

Fonte: Vidal (2003); Manley et al. (1967 apud Guzel-Seydim; Greene; Seydim, 2004).

Comparado a outros agentes oxidantes, o ozônio é considerado o segundo mais potente, em razão do seu alto potencial de oxidação, sendo o primeiro o flúor (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; LAPOLLI et al., 2003; GUZEL-SEYDIM; GREENE; SEYDIM, 2004). Na tabela 2 é mostrado o valor do potencial de oxidação do ozônio comparado a outros agentes oxidantes.

Tabela 2: Agentes oxidantes e respectivos potenciais de oxidação.

Agente oxidante	Potencial de oxidação (mV)
Flúor	3,06
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Permanganato	1,67
Dióxido de cloro	1,50
Hipoclorito	1,49
Cloro	1,36

Fonte: Manley et al. (1967) apud Guzel-Seydim; Greene; Seydim (2004).

Em solução aquosa, o ozônio é parcialmente instável e apresenta meia-vida que varia de 20 a 30 minutos a 20°C, em água destilada (KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; VIDAL, 2003; WICKRAMANAYARE, 1991). Contudo, alguns estudos

mencionam uma meia-vida de 165 minutos (DI BERNARDO; DANTAS, 2005; KHADRE; YOUSEF; KIM, 2001; RICE et al., 1981; VIDAL, 2003; WALTER; SHERMAN, 1976; YANG; CHEN, 1979). Na fase gasosa, o ozônio além de ser mais estável, possui uma meia-vida de 12 horas no ar atmosférico, de acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (DI BERNARDO; DANTAS, 2005; GRAHAM, 1997; RICE et al., 1981; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; VIDAL, 2003; WICKRAMANAYE, 1991).

2.4 Ação antimicrobiana do ozônio

O ozônio apresenta atividade antimicrobiana contra fungos filamentosos, leveduras, vírus, bactérias e protozoários, além de esporos bacterianos e fúngicos, devido ao seu alto poder oxidante (BIALOSZEWSKI et al., 2010; KIM; YOUSEF; CHRISM, 1999; NAGAYOSHI et al., 2004b; SADATULLAH; MOHAMED; RAZAK, 2014; STUBINGER; SADER; FILIPPI, 2006).

A inativação de microrganismos pelo ozônio é um processo complexo, pois ataca vários constituintes celulares: proteínas, lipídios insaturados, enzimas respiratórias, peptidoglicano e ácidos nucleicos (ARANA et al., 1999; BABLON et al., 1991; HUNT; MARIÑAS, 1997; SEIDLER et al., 2008; VICTORIN, 1992; ZHANG et al., 2011).

O ozônio age sobre os microrganismos pela oxidação de glicopeptídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, alterando a permeabilidade e causando rapidamente a lise celular. Ao introduzir-se no interior da célula, o O_3 recombina-se com elementos citoplasmáticos, provocando a oxidação de aminoácidos e ácidos nucleicos, ocasionando a clivagem e resultante morte celular. O O_3 ataca também grupos sulfidríla de enzimas, ocasionando o colapso da atividade enzimática celular. Além disto, altera as bases purícas e pirimídicas dos ácidos nucleicos, como acontece com determinados vírus, onde é destruído seu RNA e ainda altera as cadeias polipeptídicas do capsídeo proteico (HUNT; MARIÑAS, 1999; MARTINS; KOZUSNY-ANDREANI; MENDES, 2015; TORMIN et al., 2016).

O trabalho realizado por Pascual, Llorca, Canut (2007) demonstra a ação do ozônio sobre o microrganismo que acontece pelo rompimento ou fragmentação do envoltório celular, provocando extravasamento do conteúdo da célula. Interromper o

mecanismo celular ou a lise é considerado o mecanismo de inativação mais ágil do que outros formulações de desinfetantes, que requerem que a ação do desinfetante seja permear primeiro a membrana celular, para tornar eficaz sua ação.

Determinados fatores influenciam essa atividade antimicrobiana, tais como: concentração do ozônio, tempo de exposição e a espécie microbiana (BAYSAN; WHILEY; LINCH, 2000; CELIBERT; PAZERA; LUSSI, 2006; HASS & KAYMAK, 2003; LAPOLLI et al., 2003; LUDDEKE et al., 2015).

De acordo com Martinelli et al. (2017), a utilização do ozônio aquoso e gasoso é eficaz para a desinfecção da água e do ar, sendo considerado um potente agente antimicrobiano, reduzindo as unidades formadoras de colônias dos microrganismos. Constituindo assim uma técnica de sanitização alternativa aos desinfetantes convencionais. Assim como, Lamb et al. (2021) encontrou efetividade na utilização do ozônio em meios com grande quantidade de contaminação microbiana sobre diferentes concentrações e tempos de contato.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a atividade antimicrobiana da água ozonizada contra bactérias e fungos por ensaios *in vitro* e na desinfecção de superfície hospitalar.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a atividade antimicrobiana da água ozonizada gerada por torneira comercial, sobre cepas de referência e isolados clínicos de fungos filamentosos, leveduras e bactérias, nos respectivos tempos: 10 s, 30 s, 1 min e 2 min;
- Avaliar a atividade antimicrobiana da água ozonizada gerada por torneira comercial, na eliminação de microrganismos, em 19 leitos de Unidade de Terapia Intensiva em um hospital terciário do interior do estado de São Paulo, sobre cinco superfícies: mesa próxima ao leito, puxador da gaveta, monitor, bomba de infusão e lateral de cama

REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - **ANVISA. NOTA TÉCNICA Nº 108/2020/SEI/COSAN/GHCOS/DIRE3/ANVISA. 2020.** Acessado em: 11/07/2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/saneantes/notas-tecnicas/nota-tecnica-108-2020-cosan-ghcos-dire3-anvisa/view>

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde 2021 a 2025.** Brasília: ANVISA, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpciras_2021_2025.pdf> Acesso em: 11 Jul. 2022.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies.** Brasília: ANVISA, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/manual-delimpeza-e-desinfeccao-de-superficies.pdf/view>> Acesso em: 04 ago. 2022.

AL-SAAD, H. et al. Ozonated saline shows activity against planktonic and biofilm growing *Staphylococcus aureus* *in vitro*: a potential irrigant for infected wounds. **International Wound Journal**, Chichester, Jan. 2015.

ARANA, I. et al. Chlorination and ozonation of waste-water: comparative analysis of efficacy through the effect on *Escherichia coli* membranes. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 86, n. 5, p. 883-888, May 1999.

ASSADIAN, O. et. al. Practical recommendations for routine cleaning and disinfection procedures in healthcare institutions: a narrative review. **The Journal of Hospital Infection**, v. 113, p. 104-114, 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE OZONIOTERAPIA. **Ozonize-se.** São Paulo, 2022. Disponível em: <<https://www.aboz.org.br/ozonize-se/o-que-e-ozonioterapia/>>. Acesso em: 04 jul. 2022.

AVANCINI, C. A. M.; BOTH, J. M. C. Efeito da atividade bactericida de três desinfetantes sobre *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (MRSA). **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 7, n. 2, p. 85-89, 2017.

BABLON, G. et al. Practical applications of ozone: principles and case studies. In: LANGLAIS, G.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. (Ed.). **Ozone in water treatment: application and engineering.** Chelsea: Lewis, 1991. p. 133-316.

BAYSAN, A.; WHILEY, R. A.; LYNCH, E. Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions *in vitro*. **Caries Research**, v. 34, n. 6, p. 498-501, Nov.-Dec. 2000

BIALOSZEWSKI, D. et al. Antimicrobial activity of ozonated water. **Medical Science Monitor**, v. 16, n. 9, p.71-75, Sept. 2010.

BIALOSZEWSKI, D. et al. Activity of water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Medical Science Monitor**, v. 17, n. 11, p. 339-344, Nov. 2011.

BORDIGNON, J. C.; LIMA, L. R. Etiologia de infecções hospitalares e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em um hospital do Sudoeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 283-288, 2017.

BREIDABLIK, H. J. et al. Ozonized water as an alternative to alcohol-based hand disinfection. **J Hosp Infect.**, v. 102, n. 4, p. 419-424, 2019.

CANADA, M. L. M. et al. Effectiveness of ozonated water in the reprocessing of blood dialyzers. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 30, n. 3, p. 215-219, 2014

CARDOSO, C. C. et al. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 59-61, Jan.-Abr. 2003.

CARDOSO, M. G.; OLIVEIRA, L. D.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. Eficácia da água ozonizada sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* e endotoxinas em canais radiculares. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 105, n. 3, p. 85-91, 2008.

CARVALHO, C. F.; BRIOSCHI, M. L.; TEIXEIRA, M. J. Uso da termografia na avaliação da ozonioterapia como tratamento da epicondilite lateral. **Pan American Journal of Medical Thermology**, v. 2, n. 2, p. 90-93, 2015.

CASE, P. D. et al. Treatment of root canal biofilms of *Enterococcus faecalis* with ozone gas and passive ultrasound activation. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 4, p. 523-26, Apr. 2012.

CAVALCANTE, D. A. et al. Uso De Ozônio Gasoso Na Sanitização De Câmaras Frigoríficas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 2, p. 121, 2014.

CELIBERTI, P., PAZERA, P., LUSI, A. The impact of ozone treatment on enamel physical properties. **American Journal Dentistry**, v. 19, n. 1, p. 67-72, Feb. 2006.

CORREIA, L. M. et al. Vigilância de efeitos adversos de saneantes em trabalhadores hospitalares: um relato de experiência. **Revista brasileira em Promoção da Saúde**, v. 26, n. 3, p. 442-450, 2013.

DAVE, S. et al. Kinetics of inactivation of *Salmonella enteritidis* by ozone. **Institute of Food Technologists Annual Meeting. Book of Abstracts**, p. 15, 1998.

DEMIR, F.; ATGUDEN, A. Investigação experimental na inativação microbiana de água potável de poços domésticos usando ozônio sob diferentes condições de tratamento. **Ozone-Sci. Eng.**, v. 38, p. 25-35, 2015.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. São Carlos: Rima, 2005. v. 2, 784 p.

FERREIRA, A. M. et al. Superfícies do ambiente hospitalar: um possível reservatório de micro-organismos subestimado? – Revisão Integrativa. **Revista de Enfermagem UFPE On Line**, v. 7(esp), p. 4171-4182, 2013.

FERREIRA, S. et al. Ozonioterapia no controle da infecção em cirurgia oral. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v. 34, n. 1, p. 36-38, 2013.

FINCH, G. R.; SMITH, D. W.; STILES, M. E. Dose-response of *Escherichia coli* in ozone demand-free phosphate buffer. **Water Research**, v. 22, n. 2, p. 1563-1570, Dec. 1988.

FONTES, B. et al. Effect of low-dose gaseous ozone on pathogenic bacteria. **BMC infectious diseases**, v. 12, n. 1, p. 358, 2012.

FRENCH, G. L. et al. Tackling contamination of the hospital environment by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a comparison between conventional terminal cleaning and hydrogen peroxide vapour decontamination. **Journal of Hospital Infection**, v. 57, n. 1, p. 31-37, 2004.

GALLO, S.; SCRIBANTE, A. Ozone therapy in dentistry: from traditional applications towards innovative ones. A review of the literature. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 707, n. 1:012001, 2021.

GARCIA, C. A. et al. O gás ozônio na descontaminação de ambientes cirúrgicos. **Vet. Not.**, v. 14, n. 2, p. 37–40, jul./dez. 2008.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, Chicago, v. 51, n. 6, p. 72-75, 1997.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 453–460, 2004.

HAAS, C.N.; KAYMAK, B. Effect of initial microbial density on inactivation of *Giardia muris* by ozone. **Water Research**, v. 37, n. 12, p. 2980-2988, July 2003.

HAN, J. H. et al. Cleaning hospital room surfaces to prevent health care–associated infections. **Annals of Internal Medicine**, v. 163, n. 8, p. 598-607, 2015.

HORVATH, M.; BILITZKY, L.; HUTTNER, J. Fields of utilization of ozone. In: R. J. H. Clark (Ed.). **Ozone**. New York: Elsevier Science, 1985. p. 257-316.

HUNT, N. K.; MARIÑAS, B. J. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics. **Water Research**, v. 33, n. 11, p. 2633-2641, 1999.

HUNT, N. K.; MARIÑAS, B. J. Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone water. **Water Research**, v. 31, n. 6, p. 1355-1362, June 1997.

HUTH, K. C. et al. Effectiveness of ozone against endodontopathogenic microorganisms in a root canal biofilm model. **International Endodontic Journal**, v. 42, n. 1, p. 3–13, Jan. 2009.

KATTI, S. S.; CHAVA, V. K. Effect of Ozonised water on Chronic Periodontitis: a Clinical Study. **Journal of International Oral Health**, v. 5, n. 5, p. 79-84, Oct. 2013.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242–1252, 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; CHRISM, G. W. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. **Journal of Food Safety**, v. 19, n. 1, p. 17-34, Apr. 1999.

KOROL, S. et al. Desinfecção da água: ação comparativa do ozono y cloro sobre um amplo espectro bacteriano. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 27, n. 4, p. 175-83, Oct.- Dec. 1995.

KWON-CHUNG, K. J.; SUGUI, J. A. *Aspergillus fumigatus* – What makes the species a ubiquitous human fungal pathogen? **PLOS Pathogens**, v. 9, n. 12, p. 1-4, 2013.

LAMB, T. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do gás ozônio. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 12, n. 6, p.152-159, 2021.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. Ozone in water treatment: application and engineering. **Chelsea: AWWARF and Lewis Publishers**, 1991. 568 p.

LAPOLLI, F. R. et al. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In: GONÇALVES, R. F. (Coord.). **Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, agricultura e hidropônica**. Vitória: PROSAB, 2003. p.169-208.

LIMA, F. S. et al. Água ozonizada: uma nova proposta na desinfecção de superfícies em salas de cirurgias ortopédicas. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 15, n. 2, p. e9588, 2022.

LUCENA, B. J. D. et al. Disseminação de cepas bacterianas multirresistentes no ambiente hospitalar: a importância da biossegurança. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 4104-4121, 2022.

LUDDEKE, F. et al. Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. **Water Research**, v.69, p.243-251, Feb. 2015.

MARTINELLI, M. et al. Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. **Journal of Preventive Medicine and Hygiene**, v. 58, n. 1, E48-E52, 2017.

MARTINS, C. C.; KOZUSNY-ANDREANI, D. I., MENDES, E. C. B. Ozônio no controle de micro-organismos em resíduos de serviços de saúde. **Revista Baiana de Enfermagem**, v. 29, n. 4, p. 318-327, 2015.

NAGAYOSHI, M. et al. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v.19, n.4, p.240-246, Aug. 2004b.

PASCUAL, A.; LLORCA, L.; CANUT, A. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 1, S29-S35, 2007.

RICE, J. O. et al. Uses of ozone in drinking water treatment. **Journal American Water Works Association**, v.73, n.1, p.44-57, Jan. 1981.

RODRIGUES, T. S. et al. Resistência Bacteriana á Antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva: Revisão Integrativa. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde (REPIS)**, v. 4:7350, 2018.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. **Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization**. 3.ed. Oxford: Blackwell Science, 1999. 826p.

SADATULLAH, S.; MOHAMED, N. H.; RAZAK, F. A. Qualitative analyses of the antimicrobial effect of ozonated water on supragingival plaque and salivary microbes. **Annals of Medical and Health Sciences Research**, v.4, n.4, p.526-531, July 2014.

SAINI, R. Ozone therapy in dentistry: a strategic review. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v.2, n.2, p.151-153, 2011.

SEIDLER, V. et al. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. **Prague Medical Report**, v.109, n.1, p.5-13, Feb.-June 2008.

SHIN, G. A.; SOBSEY, M. D. Redução do vírus Norwalk, poliovírus 1 e bacteriófago MS2 por desinfecção de água com ozônio. **Appl Environ Microbiol.**, v. 67, p. 3975-3978, 2003.

SILVEIRA, I. C. T. **Cloro e ozônio aplicados a desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em DAPHNIA SIMILIS**. 2004. Dissertação (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SKOWRON, K. et al. Biocidal effectiveness of selected disinfectants solutions based on water and ozonated water against *Listeria monocytogenes* strains. **Microorganisms**, v. 7, n. 5:127, 2019.

SOARES, M. A. et al. Microrganismos multirresistentes nas mãos de profissionais de saúde em Unidades de Terapia Intensiva. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 9, n. 3, p. 187-192, 2019.

STÜBINGER, S.; SADER, R.; FILIPPI, A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. **Quintessence International**, v.37, n.5, p.353-359, May 2006.

TORMIN, S. C. et al. Análise do efeito bactericida do ozônio sobre bactérias multirresistentes. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 61, n. 3, p. 138-141, 2016.

UNITED STATES. Environmental Protection Agency (EPA/USEPA). Office of water. **Alternative disinfectants and oxidants guidance manual**, Apr. 1999. Disponível em: <http://www.epa.gov/ogwdw/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2022.

VICTORIN, K. Review of the genotoxicity of ozone. **Mutation Research**, v.277, n.3, p.221-238, Sept. 1992.

VIDAL, F. J. R. **Proceso de potabilización del agua e influencia del tratamiento de ozonización**. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, 2003. 253p.

WALTER, R. H.; SHERMAN, R. M. Duration of ozone in water in the upper solubility range. **Journal of Food Science**, v.41, n.5, p.993-995, Sept. 1976.

WICKRAMANAYAKE, G. B. Disinfection and sterilization by ozone. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection and sterilization and preservation**. 4th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991. p.182-190.

YANG, P. P.; CHEN, T. C. Stability of ozone and its germicidal properties on poultry meat microorganisms in liquid phase. **Journal of Food Science**, v.44, n.2, p.501-504, Mar. 1979.

ZEHURI, M. M. O. N.; SLOB, E. M. G. B. Auditoria em saúde: controle das IRAS, economia, higienização das mãos e antimicrobianos. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 10, 2018.

ZHANG, Y. Q. et al. Effects of ozone on membrane permeability and ultrastructure in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.111, n.4, p.1006-1015, Oct. 2011.

Capítulo 2 – Artigo 1

Água ozonizada: avaliação da eficácia antimicrobiana

Resumo

Objetivo. Analisar a eficácia antimicrobiana da água ozonizada.

Métodos. Culturas de bactérias e fungos foram ativadas a cada momento anterior aos ensaios antimicrobianos, de onde inóculos de microrganismos foram preparados e ajustados na escala 0,5 de McFarland e leitura por espectrofotômetro. Considerou-se nove espécies de bactérias e 13 de fungos. Frascos de vidro estéreis foram utilizados para transferência de 200µL do inóculo com inclusão de 200 ml de água ozonizada produzida em tempo real pela torneira comercial (0,6 ppm). Uma alíquota de cada amostra foi retirada nos tempos: 10 s, 30 s, 1 min e 2 min, para o plaqueamento subsequente em meio de cultura para bactérias e fungos, através da técnica de *spread-plate* utilizando alça de Drigalsky. Como controle, os procedimentos foram iguais, apenas diferindo sobre a água comum utilizada, submetida à esterilização prévia.

Resultados. Considerando-se os tempos avaliados frente às culturas de bactérias e fungos expostas a água com ozônio, foi possível observar que o número de unidade formadora de colônias, para todos os tempos testados, 10 s, 30 s, 1 min e 2 min, foi menor em relação ao número obtido nas placas controles.

Conclusão. A água ozonizada, na concentração de 0,6 ppm, apresenta expressiva propriedade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas, Gram negativas, fungos leveduriformes e filamentosos e pode ser considerada uma estratégia adjuvante para compor os protocolos de limpeza e desinfecção de superfícies.

Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) acarretam sérios impactos à saúde pública por contribuírem com o aumento da morbidade, mortalidade e dos custos. Além do mais, afetam negativamente a segurança do paciente e a qualidade dos serviços de saúde (ANVISA, 2021).

As IRAS são um dos eventos mais frequentes associados ao ambiente hospitalar, acredita-se que tal fato está relacionado à maior ocorrência de intervenções invasivas, uso de antibióticos de amplo espectro, presença de doenças subjacentes e internações mais longas (GOMES et al., 2020).

Diversos microrganismos estão relacionados a ambientes hospitalares, sendo os principais: *Staphylococcus aureus* resistente à metilina, *Enterococcus* resistente à vancomicina, *Acinetobacter baumannii* resistente à carbapenêmicos e enterobactérias produtoras de beta lactamases (BORDIGNON, LIMA, 2017; LUTZ et al., 2017; MEDINA-POLO et al., 2021).

De modo geral, microrganismos patogênicos podem estar presentes em alta carga nas áreas de proximidade de leito de pacientes, isto é, monitores, grade de cama, mesa acessória. Assim, um paciente infectado ou colonizado, pode aumentar em duas ou mais vezes o risco de infecção aos ocupantes subsequentes de leitos, evidenciando a importância dos processos de desinfecção nos serviços de saúde (MITCHELL et al., 2015). Neste contexto, novos protocolos de desinfecção devem ser estudados e desenvolvidos para tornar os processos de desinfecção mais eficazes na eliminação de microrganismos.

O ozônio é um potente agente oxidante que afeta diretamente as células de bactérias, fungos e protozoários, além de danificar a estrutura dos vírus, sendo efetivo em baixas concentrações e com pouco tempo de ação (WYSOK et al., 2006). Com ação oxidativa, afeta a parede celular e a membrana citoplasmática das células microbianas, aumentando a permeabilidade e, conseqüentemente, causando a morte do microrganismo (YAMAYOSHI et al., 1993; AZARPAZHOOH, LIMEBACK, 2008).

O ozônio dissolvido em água tem alcançado bons resultados para a redução da carga microbiana, com relatos de estudos na área de tratamentos endodônticos (CARDOSO et al., 2008), em alimentos (ARAYAN et al., 2017; SKOWRON et al., 2019) e em tratamentos para água potável (SHIN et al., 2003; DEMIR et al., 2016). Contudo, tem-se que, em processos de desinfecção de ambiente por água ozonizada não há consenso, como observado para tratamentos estabelecidos com ozônio gasoso. Como alternativa, os desinfetantes tradicionais à base de álcool e líquidos constituem as práticas mais comuns para controle microbiano (BREIDABLIK et al., 2019).

Assim, este estudo objetiva analisar a eficácia da atividade antimicrobiana da água ozonizada na eliminação de microrganismos.

Materiais e Métodos

Inóculo microbiano – Fungos filamentosos, leveduras e Bactérias

Foram utilizadas cepas de referência e isolados clínicos de bactérias e fungos filamentosos e leveduras, pertencentes ao Laboratório de Microbiologia do Departamento de Doenças Dermatológicas, Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São Paulo, Brasil, local de realização dos experimentos.

Segue abaixo as cepas utilizadas:

Quadro 1 – Fungos filamentosos – Origem

Fungos filamentosos	Origem
<i>Trichophyton rubrum</i>	ATCC 2266
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Clínica
<i>Microsporum canis</i>	Clínica

Quadro 2 – Leveduras – Origem

Leveduras	Origem
<i>Candida albicans</i>	ATCC 90028
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019
<i>Candida krusei</i>	ATCC 40147
<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 13803
<i>Candida glabrata</i>	ATCC 2950
<i>Cryptococcus neoformans</i>	ATCC 90012
<i>Candida auris</i>	Clínica
<i>Trichosporon asahii</i>	Clínica
<i>Geotrichum candidum</i>	Clínica
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Clínica

Quadro 3 – Bactérias – Origem

Bactérias	Origem
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 1025
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae produtora de carbapenemase</i>	Clínica
<i>Shigella flexneri</i>	Clínica
<i>Enterococcus faecium</i>	Clínica
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Clínica
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Clínica
<i>Burkholderia cepacia</i>	Clínica
<i>Salmonella enteritidis</i>	Clínica

Os inóculos foram preparados em solução salina e ajustados por espectrofotometria, em correspondência à escala 0,5 de McFarland. Para as bactérias, após o ajuste, foi feita uma diluição 1:10 do inóculo em salina, permitindo a contagem de unidade formadora de colônia (UFC/ml).

Avaliação da água ozonizada frente aos microrganismos

Para os experimentos, foi utilizada uma torneira da empresa DOCOL® como fonte de água ozonizada. A torneira mistura o ozônio gasoso na água que é gerado por um efeito corona e sistema de sucção por um efeito Venturi localizado internamente no corpo do produto. A taxa de produção de ozônio pelo gerador é de 100 mg/h, onde após a mistura com a vazão de água do produto, atinge uma diluição de 0,2–0,8 ppm (mg/l) de ozônio na água.

Foram colocados 200 ml de água ozonizada em frascos reagentes graduados e esterilizados, que receberam simultaneamente 200 µl dos inóculos preparados. Após, homogeneização, 100 µl das amostras foram retirados, nos respectivos tempos: 10 s, 30s, 1 min e 2 min. O plaqueamento das amostras foi feito em meio de cultura *Brain Heart Infusion Agar* DIFCO® (BHI) para as bactérias e *Sabouraud Dextrose Agar* OXOID® (AS) para as leveduras e fungos filamentosos, distribuídos com auxílio de alça de Drigalski.

Como controle, 200 ml de água sem ozônio previamente esterilizada foram introduzidos em frascos reagentes graduados e esterilizados, que receberam 200 µl dos inóculos preparados no mesmo momento do ensaio com água ozonizada. Após, a semeadura seguiu os mesmos parâmetros metodológicos descritos.

A incubação das placas ocorreu por de 24 h a 35±2°C para as bactérias e leveduras, e 48-72 h a 30±2°C para os fungos filamentosos. Registro de crescimento foi documentado em número de unidade formadora de colônia (UFC/0,1 ml) para grupo tratado e controle.

Todos os testes foram feitos em duplicata, para cada microrganismo testado.

A concentração de ozônio na água para os testes acima descritos foi validada por kit colorimétrico *CHEMets® KIT Ozone* (K-7404), seguindo-se a instrução do fabricante.

Registros de temperatura e concentração de cloro foram monitorados.

Resultados

A concentração de ozônio na água, no momento dos testes, correspondeu de 0,5 a 0,6 ppm, com registros de temperatura de 21°C a 31°C, e concentração de cloro de 0,2 a 0,5 mg/L.

A água ozonizada produzida pela torneira mostrou atividade antimicrobiana sobre os microrganismos analisados. Foi possível observar que as placas estudadas apresentaram redução parcial ou total, do número de UFC em relação às placas controles, para todos os tempos testados e em ambos os testes em duplicata. Considerando-se os tempos avaliados frente às culturas de bactérias e fungos expostas a água com ozônio, em ambos os testes, foram observados crescimento apenas para *Epidermophyton floccosum* e *Microsporium canis*, no tempo de 10 s. Comparando com as placas controles, mesmo havendo crescimento, observou-se uma redução no número de UFC, sendo eliminados a partir do tempo de 30 s de contato com água ozonizada (Quadro 4). As demais culturas de microrganismos, apresentaram redução total do número de UFC a partir do tempo de 10 s, conforme quadro 4, 5 e 6.

Quadro 4 – Demonstração numérica da média aritmética das UFC dos fungos filamentosos sobre as placas de Petri, nos tempos de 10 s, 30 s, 1 min e 2 min, em água sem O₃ (controle) e com O₃.

Fungos filamentosos	Controle – Sem O ₃				Com O ₃			
	Tempo				Tempo			
	10 s	30 s	1 min	2 min	10 s	30 s	1 min	2 min
<i>Trichophyton rubrum</i>	6 UFC	6 UFC	3 UFC	4 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Epidermophyton floccosum</i>	18 UFC	18 UFC	8 UFC	11 UFC	8 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Microsporium canis</i>	2 UFC	4 UFC	2 UFC	2 UFC	1 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC

Quadro 5 – Demonstração numérica da média aritmética das UFC das bactérias sobre as placas de Petri, nos tempos de 10 s, 30 s, 1 min e 2 min, em água sem O₃ (controle) e com O₃.

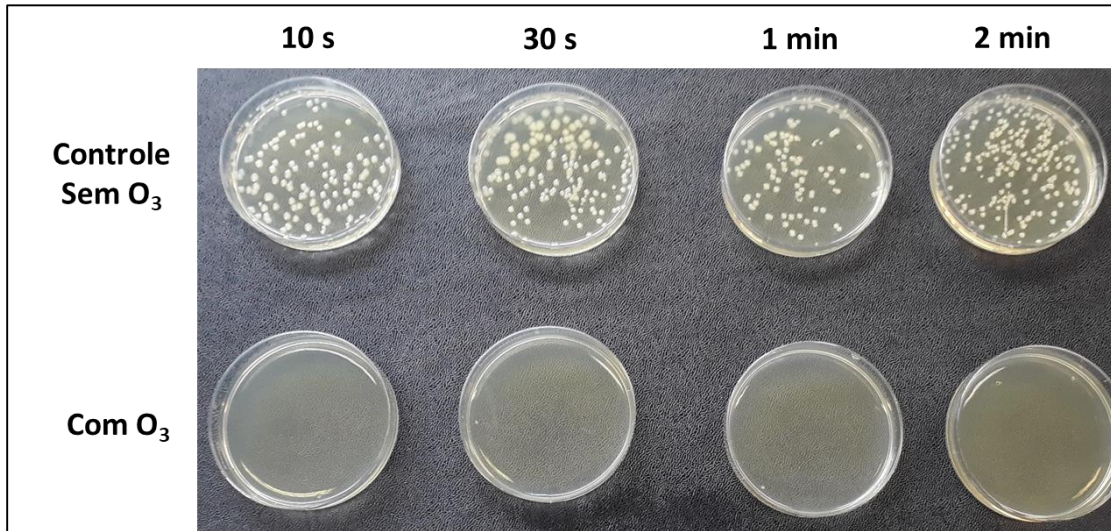
Bactérias	Controle – Sem O ₃				Com O ₃			
	Tempo				Tempo			
	10 s	30 s	1 min	2 min	10 s	30 s	1 min	2 min
<i>Staphylococcus aureus</i>	≈262 UFC	156 UFC	≈402 UFC	≈386 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≈840 UFC	≈708 UFC	≈682 UFC	≈836 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Escherichia coli</i>	≈372 UFC	≈430 UFC	≈462 UFC	≈591 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase	≈430 UFC	≈254 UFC	≈78 UFC	84 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Shigella flexneri</i>	≈576 UFC	≈544 UFC	≈362 UFC	≈476 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Enterococcus faecium</i>	≈314 UFC	≈268 UFC	112 UFC	107 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Acinetobacter baumannii</i>	≈450 UFC	≈340 UFC	≈396 UFC	≈381 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	≈506 UFC	≈646 UFC	≈582 UFC	≈443 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Burkholderia cepacia</i>	≈422 UFC	≈438 UFC	≈360 UFC	≈448 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Salmonella enteritidis</i>	≈438 UFC	≈316 UFC	112 UFC	≈282 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC

Quadro 6 – Demonstração numérica da média aritmética das UFC das leveduras sobre as placas de Petri, nos tempos de 10 s, 30 s, 1 min e 2 min, em água sem O₃ (controle) e com O₃.

Leveduras	Controle – Sem O ₃				Com O ₃			
	Tempo				Tempo			
	10 s	30 s	1 min	2 min	10 s	30 s	1 min	2 min
<i>Candida albicans</i>	119 UFC	125 UFC	118 UFC	116 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Candida parapsilosis</i>	89 UFC	88 UFC	75 UFC	59 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Candida Krusei</i>	46 UFC	58 UFC	57 UFC	30 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Candida tropicalis</i>	83 UFC	84 UFC	61 UFC	93 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Candida glabrata</i>	122 UFC	92 UFC	120 UFC	56 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Cryptococcus neoformans</i>	85 UFC	58 UFC	89 UFC	90 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Candida auris</i>	131 UFC	113 UFC	85 UFC	66 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Trichosporon asahii</i>	61 UFC	56 UFC	58 UFC	56 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Geotrichum candidum</i>	101 UFC	89 UFC	99 UFC	92 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	77 UFC	74 UFC	68 UFC	35 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC	0 UFC

Todas as culturas foram fotografadas. Apenas como demonstração, segue abaixo a de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase, com redução total do número de UFC, quando em contato com água ozonizada e água normal.

Figura 1 – Cultura de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase sobre as placas de Petri, nos tempos de 10 s, 30 s, 1 min e 2 min, em água sem O₃ (controle) e com O₃.



Discussão

As práticas de limpeza e desinfecção (L/D) de ambientes, superfícies e equipamentos fazem parte dos programas de controle de infecção, na tentativa de adequar o ambiente, minimizando o risco de doenças (HAN et al., 2015; FROTA, et al., 2017; FURLAN et al., 2019). Neste cenário, o uso de desinfetantes é uma prática padrão para o controle microbiano, incluindo ácido peracético ou clorexidina, hipoclorito de sódio e formulações isoladas ou combinadas com peróxido de hidrogênio (SATO et al., 2019). Tais métodos têm desvantagens, como o alto custo, a prática laboral de preparo, além do potencial para inalação dos vapores tóxicos pelos profissionais que atuam próximos aos produtos. (CHUGHTAI et al., 2019; WEST et al., 2018).

A busca por novos produtos e métodos para a desinfecção de ambientes são importantes para facilitar a formulação e execução dos protocolos de desinfecção, sendo que a água ozonizada surge como um composto promissor controle microbiano (BREIDABLIK et al., 2019). Neste estudo, foi possível observar a ótima performance antimicrobiana do ozônio em sua forma de água ozonizada.

A ação da água ozonizada, nos testes executados, apresentou ação antimicrobiana com 10 segundos), contra fungos filamentosos, bactérias e leveduras. As espécies, *Epidermophyton floccosum* e *Microsporium canis*, apresentaram crescimento após o contato com a água ozonizada apenas em 10 segundos. Esta ação é relevante uma vez que quaisquer produtos químicos de ação antifúngica, começam a atuar somente com 10 minutos de contato, conforme concentração das formulações. Comparando-se o número de UFC do tratado com o controle, o crescimento foi inferior, com redução da carga microbiana. A literatura científica considera que os fungos filamentosos são mais resistentes ao ozônio do que as leveduras, com capacidade de crescer e sobreviver a ambientes de umidade e temperaturas extremos, com dispersão de conídios (KIM et al., 1999; VEERDONK et al., 2017). Aqui tem-se um dado divergente para duas espécies de fungo filamentoso, uma vez que foram eliminados com pouco tempo de contato.

Diversos estudos vêm sendo conduzidos com o propósito de investigar a atividade antimicrobiana do gás ozônio contra fungos, sensíveis ou resistentes, com diversidade de tempo de exposição e concentração. Variáveis foram analisadas para inibição de leveduras, formação do tubo germinativo e biofilme, comprovando-se que o gás ozônio dentro de protocolos bem estabelecidos para tempo de exposição, sempre apresenta excelente atividade antimicrobiana (HUDSON, SHARMA, 2009; MATHÉ, DIJCK, 2013; TORMIN et al., 2016; ZARGARAN, FATAHINIA, ZAREI MAHMOUDABADI, 2017; FERRO et al., 2019; HAYRAN, DENIZ, AYDIN, 2020; WOLHEIM et al., 2020). Ressaltam-se também estudos comprovando a atividade antibacteriana do O₃, em diferentes concentrações e tempos de exposição, seja *in vitro*, água potável, odontologia e alimentos (VELANO et al., 2001; CAVALCANTE et al., 2015; BELEGOTE et al., 2018; DING et al., 2019). Assim, a pesquisa atual corrobora com os dados da literatura, demonstrando e comprovando a atividade antimicrobiana da água ozonizada sobre bactérias e fungos.

Os resultados estimulam a continuação das investigações, pois o uso de soluções contendo O₃, ou mesmo a sua utilização na forma gasosa, quer como desinfetante, quer como substância asséptica, poderão contribuir para a redução da transmissão desses microrganismos e até no desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas. Por ser um gás instável, o ozônio possui um tempo de meia vida curto, aproximadamente 20,0 minutos em água a 20,0°C (KHADRE, YOUSEF, KIM, 2001).

A ocorrência de microrganismos multirresistentes é uma preocupação crescente e preocupante dentro e fora do ambiente hospitalar, e com isso, devido ao amplo espectro de ação do O₃, pode ser utilizado para remover microrganismos resistentes e genes de resistência do ambiente (WU et al., 2021). Com isso, é importante destacar a atividade antimicrobiana da água ozonizada sobre *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*, demonstrada neste estudo, uma vez que apresenta resistência aos antibióticos carbapenêmicos. Essa resistência trás preocupação, pois esta adaptação da bactéria ao medicamento dificulta a escolha do antibiótico a ser usado no tratamento dos pacientes internados no hospital, que é um local de fácil e rápida disseminação (DE PAULA et al., 2020). A ampla e rápida ação antimicrobiana da água ozonizada, traz novo potencial de controle de bactéria resistente em ambiente hospitalar.

O número de relatos de infecções causadas por espécies de *Candida* não-albicans, como *C. glabrata* e *C. Krusei* é crescente. Além do que, estas espécies apresentam resistência aos antifúngicos, com destaque para a classe dos azólicos (ROCHA et al., 2021). Neste estudo, a atividade fungicida da água ozonizada sobre estas duas espécies reforça o uso do ozônio na desinfecção de superfícies e sendo assim minimizando o risco de infecções causadas por essas duas espécies não-albicans.

Candida auris, um fungo emergente que representa uma série ameaça a saúde pública, pelo fato de ser multirresistente e se distinguir entre as leveduras do mesmo gênero, pois se espalha facilmente em ambientes de saúde, em contrapartida surtos hospitalares de outras espécies de *Candida* não são comuns (MACHADO, DALMOLIN, BRANDÃO, 2021). Em nosso estudo, a água ozonizada apresentou atividade fungicida sobre *Candida auris*, no tempo de 10 s, com redução total do número de UFCs. A água ozonizada surge como um composto promissor que poderá diminuir e freiar a disseminação desta espécie fúngica, a despeito de seu padrão de resistência aos antimicrobianos utilizados na prática clínica.

A ingestão de alimentos que não atendem aos padrões sanitários, seja por representarem perigos físicos, químicos e, principalmente, biológicos, são um risco iminente à segurança alimentar, sendo a contaminação por agentes biológicos a maior causadora dessas doenças (SORAGNI, BARNABE, MELLO, 2019). Na indústria os

métodos de sanitização de superfícies e matérias primas ou biológicas, se fazem necessários para evitar que o produto contaminado seja liberado, causando graves prejuízos a saúde, e uma perda econômica drástica. A importância de um processo adequado de sanitização, nas superfícies de contato durante a manipulação de qualquer procedimento, diminui os riscos de contaminação. Nesta perspectiva a água ozonizada surge também como um importante antimicrobiano, para a prevenção dos processos industriais em geral, podendo reduzir a carga microbiana. O presente estudo demonstrou redução total do número de UFCs de *Salmonella enteritidis* e *Shigella flexneri*, no tempo de 10 s em contato com a água ozonizada. Os resultados apresentados neste estudo são promissores para a utilização nos processos de desinfecção e sanitização das superfícies, seja para a área industrial ou hospitalar.

Acinetobacter baumannii vem assumindo importante papel nos processos infecciosos, e inúmeros são os relatos de surto de infecção hospitalar no mundo. O uso extensivo de terapia antimicrobiana em hospitais tem contribuído para a seleção e para o aumento no número de isolados de *A. baumannii* multirresistentes aos antimicrobianos, inclusive aos carbapenêmicos, dificultando o tratamento (HARDING, HENNON, FELDMAN, 2018). Por fim, outro patógeno oportunista preocupante, *Burkholderia cepacia*, com alto potencial para causar infecções respiratórias graves em pacientes com doenças subjacentes, a saber, fibrose cística e doença granulomatosa crônica. Além disso, apresentam uma resistência inerente a antibióticos e antissépticos (TAVARES et al., 2020). Destaca-se a excelente atividade antimicrobiana da água ozonizada para esses dois grupos de microrganismos citados, sendo eliminados também no tempo de 10 s.

Conclusão

Este estudo comprova a potente atividade antimicrobiana da água ozonizada, produzido por uma torneira comercial. Esta pesquisa fornece uma nova perspectiva para controle microbiano, com potencial atividade para efeito antiséptico ou desinfetante.

Considera-se a vantagem de que o ozônio dissolvido em água, rapidamente se dissocia, sem deixar residual para o ambiente. A incorporação da água ozonizada aos

protocolos de higiene e desinfecção hospitalar é um método barato, e de produção contínua, sem que haja preparo prévio, isto é, apenas com a abertura do sistema gerador de ozônio integrado à torneira, o ozônio é gerado.

A utilização do ozônio no controle de microrganismos, poderá diminuir as taxas de permanência e disseminação de patógenos nas unidades de saúde, até mesmo de bactérias multirresistentes de conhecida e ampla presença em ambientes hospitalares ou ainda de microrganismos de moderada ocorrência, mas que inspiram cuidados por sua alta capacidade de resistência aos fármacos como é o caso da *Candida auris*.

Referências

AGOSTINI, F. et al. In vitro comparison of antibacterial effect of ozonated water and ozonated gas. **Ozone Sci Eng.**, v. 43, n. 4, p. 394-400, 2020.

ARAYAN, L. T. et al. Aplicações otimizadas de água ozonizada como um desinfetante eficaz para eliminação de *Staphylococcus aureus* em um ambiente de matadouro. **PJ. Prev.Veterinario.Med.**, p. 71-74, 2017.

AZARPAZHOOH, A.; LIMEBACK, H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. **Journal of dentistry**, v. 36, n. 2, p. 104-116, 2008.

BELEGOTE, I. S. et al. Tratamento de doença periodontal com ozônio. **Braz. J. Surg. Clin. Res.**, v. 23, n. 2, p. 101-104, 2018.

BORDIGNON, J. C.; LIMA, L. R. Etiologia de infecções hospitalares e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em um hospital do Sudoeste do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 3, p. 283-288, 2017.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde 2021 a 2025**. Brasília: ANVISA, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpciras_2021_2025.pdf> Acesso em: 11 Jul. 2022.

BREIDABLIK, H. J. et al. Ozonized water as an alternative to alcohol-based hand disinfection. **J Hosp Infect.**, v. 102, n. 4, p. 419-424, 2019.

CARDOSO, M. G.; OLIVEIRA, L. D.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. Eficácia da água ozonizada sobre *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* e endotoxinas em canais radiculares. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 105, n. 3, p. 85-91, 2008.

CAVALCANTE, D. A. et al. Vida de prateleira de alface americana tratada com água ozonizada. **Ciênc Rural**, v. 45, n. 11, p. 2089-2096, 2015.

CHUGHTAI, A. A. et al. Contamination by respiratory viruses on outer surface of medical masks used by hospital healthcare workers. **BMC Infect Dis.**, v. 19, n. 1, 2019.

DEMIR, F.; ATGUDEN, A. Investigação experimental na inativação microbiana de água potável de poços domésticos usando ozônio sob diferentes condições de tratamento. **Ozone-Sci. Eng.**, v. 38, p. 25-35, 2016.

DE PAULA, A. J. F. et al. Ocorrência de *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC) e implicações na evolução do paciente. **J. Infect. Control**, v. 9, n. 1, p. 43-46, 2020.

DING, W. et al. Ozone disinfection of chlorine-resistant bacteria in drinking water. **Water Research**, v. 160, n. 1, p. 339-349, 2019.

FERRO, A. C. et al. A Atividade Inibitória do Gás de Ozônio em Meio Sólido e Meio Líquido sobre a *Candida albicans*, in vitro. **Rev Ibero-Americana Podol.**, v. 1, n. 1, p. 30-35, 2019.

FROTA, O. P. et al. Efficiency of cleaning and disinfection of surfaces: correlation between assessment methods. **Rev Bras Enferm.**, v. 70, n. 6, p. 1176-1183, 2017.

FURLAN, M. C. et al. Evaluation of disinfection of surfaces at an outpatient unit before and after an intervention program. **BMC Infect Dis.**, v. 19, n. 1:355, 2019.

GOMES, A. A. G. et al. Infecções relacionadas à assistência em saúde em unidades de terapia intensiva no Brasil. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 11, e4665, 2020.

HAN, J. H. et al. Cleaning hospital room surfaces to prevent health care-associated infections. **Ann Intern Med.**, v. 163, n. 8, p. 598-607, 2015.

HARDING, C.; HENNON, S.; FELDMAN, &. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. **Nat Rev Microbiol.** V. 16, p. 91–102, 2018.

HAYRAN, Y.; DENIZ, S. T.; AYDIN, A. Antimicrobial Activity of Ozone against Pathogenic Oral Microorganisms on Different Denture Base Resins. **Ozone Sci Eng.**, v. 42, n. 1, p. 43-53, 2020.

HUDSON, J. B.; SHARMA, M. et al. The Practical Application of Ozone Gas as an Anti-fungal (Anti-mold) **Agent. Ozone Sci Eng.**, v. 31, n. 4, p. 326–332, 2009.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **J. Food Prot**, v. 15, n. 11, p. 661-674, 1999.

LUTZ, P. et al. Antibiotic resistance in healthcare-related and nosocomial spontaneous bacterial peritonitis. **European journal of clinical investigation**, v. 47, n. 1, p. 44-52, 2017.

MACHADO, G. S.; DALMOLIN, T. V.; BRANDÃO, F. *Candida auris* – fungo emergente que ameaça a saúde global. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9673-9681, 2021.

MATHÉ, L.; VAN DIJCK, P. Recent insights into *Candida albicans* biofilm resistance mechanisms. **Curr Genet.**, v. 59, n. 4, p. 251–264, 2013.

MEDINA-POLO, J.; NABER, K. G.; BJERKLUND JOHANSEN, T. E. Healthcare-associated urinary tract infections in urology. **GMS Infect Dis.**, v. 9, Doc05, 2021.

MITCHELL, B. G. et al. Hospital infection control units: staffing, costs, and priorities. **Am J Infect Control.**, v. 43, n. 6, p. 612-616, 2015.

ROCHA, W. R. V. et al. Gênero *Candida* - Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, e43910414283, 2021.

SATO, Y. et al., Comparison of various disinfectants on bactericidal activity under organic matter contaminated environments. **Biocontrol Sci.**, v. 24, n. 2, p. 103-108, 2019.

SHIN, G. A.; SOBSEY, M. D. Redução do vírus Norwalk, poliovírus 1 e bacteriófago MS2 por desinfecção de água com ozônio. **Appl Environ Microbiol.**, v. 67, p. 3975-3978, 2003.

SKOWRON, K. et al. Biocidal effectiveness of selected disinfectants solutions based on water and ozonated water against *Listeria monocytogenes* strains. **Microorganisms**, v. 7, n. 5:127, 2019.

SORAGNI, L.; BARNABE, A. S.; MELLO, A. S. Doenças transmitidas por alimentos e participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 9, n. 2, p. 19-31, 2019.

TAVARES, M. et al. *Burkholderia cepacia* Complex Bacteria: a Feared Contamination Risk in Water-Based Pharmaceutical Products. **Clinical Microbiology Reviews**, v.33, n. 3, e00139-19, 2020.

TORMIN, S. C. et al. Analysis of bactericidal effect of ozone on multi-resistant bacteria. **Arq Médicos dos Hosp e da Fac Ciências Médicas da St Casa São Paulo**, v. 61, n. 3, p. 138–141, 2016.

VEERDONK, F. L. V. et al. *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 11, p. 661-674, 2017.

VELANO, H. E. et al. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesqui Odontol Bras.**, v. 15, n. 1, p. 18-22, 2001.

ZARGARAN, M.; FATAHINIA, M.; ZAREI MAHMOUDABADI, A. The efficacy of gaseous ozone against different forms of *Candida albicans*. **Curr Med Mycol.**, v. 3, n. 2, p. 26-32, 2017.

WEST, A. M. et al. Strain, disinfectant, concentration, and contact time quantitatively impact disinfectant efficacy. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 49, p. 1-8, 2018.

WOLLHEIM, C. et al. Efeito microbicida do ozônio gasoso em *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. **Rev Ibero-Americana**, v. 2, n. 1, p. 121-125, 2020.

WU, Y. et al. Mechanism concerning the occurrence and removal of antibiotic resistance genes in composting product with ozone post-treatment. **Bioresour Technol.**, v. 321:124433, 2021.

WYSOK, B.; URADZIŃSKI, J.; GOMÓŁKA-PAWLICKA, M. Ozone as an alternative disinfectant - A review. Pol. **J. Food Nutr. Sci.**, v. 15, n. 1, p. 3-8, 2006.

YAMAYOSHI, T.; TATSUMI, N. Microbicidal effects of ozone solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Drugs Under Experimental and Clinical Research.**, v. 19, n. 2, p. 59-64, 1993.

Capítulo 3 – Artigo II

ÁGUA OZONIZADA NA DESINFECÇÃO DE SUPERFÍCIE HOSPITALAR DE ALTO
CONTATO: EFICÁCIA DE REMOÇÃO MICROBIANA

OZONIZED WATER IN HOSPITAL HIGH-TOUCH SURFACE DISINFECTION:
EFFECTIVENESS OF MICROBIAL REMOVAL

AGUA OZONIZADA EN LA DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES HOSPITALARIAS DE
ALTO CONTACTO: EFECTIVIDAD EN LA ELIMINACIÓN DE MICROORGANISMOS

Resumo

Objetivo. Analisar a eficácia da água ozonizada na eliminação de microrganismos presentes em superfícies hospitalares, buscando contribuir no aperfeiçoamento dos protocolos hospitalares de desinfecção.

Métodos. Cinco superfícies (mesa próxima ao leito, puxador da gaveta, monitor, bomba de infusão e lateral da cama) de 19 leitos de Unidades de Terapia Intensiva foram avaliadas quanto à presença de microrganismos antes e após limpeza com água ozonizada produzida por torneira especializada.

Resultados. Todas as superfícies testadas estavam contaminadas com microrganismos. Em todas elas houve redução significativa da carga microbiana após limpeza com água ozonizada, variando de 78,8% a 98,7% de redução.

Conclusão. Mais estudos são necessários para determinar o protocolo ideal, porém a água ozonizada mostrou ter potencial para reduzir significativamente a contaminação microbiana de superfícies hospitalares e pode ser considerada uma estratégia adjuvante para compor estratégias de limpeza e desinfecção.

Descritores: Ozônio; Serviço Hospitalar de Limpeza; Fômites; Contaminação Biológica.

Abstract

Objective. To assess the effectiveness of ozonized water in eliminating microorganisms present on hospital surfaces and, consequently, to contribute to the improvement of hospital disinfection protocols

Methods. Five surfaces (table next to the bed, drawer handle, monitor, infusion pump) of 19 beds of Intensive Care Units were evaluated for the presence of microorganisms, before and after cleaning with ozonized water produced by a specialized faucet.

Results. All surfaces tested were contaminated with microorganisms. In all of them, there was a significant reduction in the microbial load after cleaning with ozonized water, ranging from 78.8% to 98.7% reduction.

Conclusion. More studies are needed to determine the ideal protocol, but ozonized water has shown to have the potential to significantly reduce microbial contamination of hospital surfaces, and it can be considered an adjuvant strategy to include in cleaning and disinfection strategies.

Keywords: Ozone; Housekeeping, Hospital; Fomites; Biological Contamination.

Resumen

Objetivo. Analizar la efectividad del agua ozonizada en la eliminación de microorganismos presentes en superficies hospitalarias, buscando contribuir a la mejora de los protocolos de desinfección hospitalaria.

Método. Se evaluó la presencia de microorganismos en cinco superficies (mesa cercana a la cama, manija de cajón, monitor, bomba de infusión) de 19 camas en Unidades de Cuidados Intensivos, antes y después de la limpieza con agua ozonizada producida por grifo especializado.

Resultados. Todas las superficies probadas estaban contaminadas con microorganismos. En todas ellas hubo reducción significativa de la carga microbiana después de la limpieza con agua ozonizada, variando entre un 78,8% y un 98,7% de reducción.

Conclusión. Se necesitan más estudios para determinar el protocolo ideal, pero el agua ozonizada ha demostrado tener el potencial de reducir significativamente la contaminación microbiana de las superficies hospitalarias y puede considerarse una estrategia adyuvante para componer las estrategias de limpieza y desinfección.

Palabras clave: Ozono; Servicio de Limpieza en Hospital; Fómites; Contaminación Biológica.

Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) estão associadas a microrganismos multirresistentes que podem prolongar o tempo de internação, aumentar as taxas de mortalidade e os custos hospitalares, sendo importante ameaça à saúde pública.¹ Além da atuação dos próprios profissionais da saúde na transmissão de patógenos entre pacientes, as superfícies de alto contato também atuam como significativas fontes de transmissão. Neste contexto, a limpeza e desinfecção eficiente dessas superfícies atuam como estratégia para prevenir as IRAS.²

As superfícies de alto contato próximas ao paciente apresentam grande carga microbiológica e podem contribuir para a transmissão secundária a outros pacientes por contato direto ou veiculadas pelas mãos de profissionais de saúde e visitantes.³ Por outro lado, patógenos também podem ser transmitidos por um ocupante anterior do quarto infectado ou colonizado, aumentando o risco de infecção aos ocupantes subsequentes, em duas ou mais vezes. Por isso, a descontaminação dos quartos e leitos é fundamental para reduzir e prevenir a transmissão de patógenos no ambiente hospitalar.⁴

Métodos de limpeza e/ou desinfecção ambiental, bem como uso de produtos com potencial antimicrobiano, são adotados para prevenir a manutenção de micro-organismos no ambiente hospitalar com exclusão dos reservatórios.⁵

Os protocolos padrões de desinfecção de materiais e áreas hospitalares utilizam desinfetantes químicos aplicados de modo manual, o que pode gerar variações na forma de execução. Como por exemplo, alterações relacionadas as diluições, tempo de ação e a ordem da aplicação dos produtos, o que pode decorrer em falhas nos processos de desinfecção.²

Devido à essas limitações, novas tecnologias de desinfecção são estudadas e desenvolvidas para tornar os processos de limpeza e desinfecção mais eficazes para combater microrganismos de ambiente hospitalar. Nesta perspectiva, o ozônio apresenta esse potencial por ser um agente oxidante que afeta diretamente as células microbianas de bactérias, fungos e protozoários, além de danificar a estrutura dos vírus, mesmo em baixas concentrações e com pouco tempo de ação.⁶ De fato, este gás é uma forma alotrópica do elemento oxigênio, formado por três átomos ligados covalentemente com ângulo de 127° entre eles, muito instável. Em associação com a água, o potencial biocida é observado sobre biomoléculas, proteínas, ácidos nucléicos, carboidratos e lipídeos de diversos microrganismos.⁷

Atualmente, o ozônio vem sendo empregado em associação com solução salina, com água, óleo e, mais frequentemente, na sua forma gasosa.⁶ O ozônio gasoso tem sido potencialmente considerado para desinfetar ambientes hospitalares, uma vez que pode penetrar facilmente na maioria das áreas e superfícies.⁸

As propriedades antimicrobianas da água ozonizada em processos de desinfecção foram descritas, com sua eficiência na redução da carga microbiana em tratamentos endodônticos⁹, em alimentos¹⁰ e em tratamentos para água potável¹¹, e, no atual contexto de pandemia, demonstrada a atividade antiviral contra o vírus causador da COVID-19.¹² Assim, a água ozonizada é referida como alternativa aos desinfetantes tradicionais à base de álcool e líquidos utilizados na desinfecção das mãos.¹³

O uso de água ozonizada nunca foi implantado nos estudos sistematizados juntos ao ambiente hospitalar, com ênfase ao combate de agentes infecciosos e consequente desinfecção de superfícies. Assim, este estudo objetivou analisar a eficácia da água ozonizada na eliminação de microrganismos presentes em superfícies hospitalares, buscando contribuir no aperfeiçoamento dos protocolos hospitalares de desinfecção.

Método

Tratou-se de um estudo quantitativo, descritivo e exploratório, realizado antes e após o processo de limpeza/desinfecção de superfícies com água ozonizada, considerando cinco superfícies de 19 leitos de Unidades de Terapia Intensiva em um hospital terciário do interior

do estado de São Paulo. Como alvos do tratamento, foram incluídos: a grade lateral da cama, a mesa acessória próxima ao leito, o puxador da gaveta, o monitor e a bomba de infusão, obedecendo aos procedimentos normativos padrões de higiene e limpeza hospitalar, Figura 1.



Figura 1. Áreas delimitadas para coleta. a) lateral de cama; b) gaveta; c) mesa acessória; d) monitor; e) bomba de infusão.

Um quadrante de 10 cm² foi utilizado como área demarcada para coleta antes e após o tratamento com água ozonizada. Inicialmente, um *imprint* foi destinado em um dos lados do quadrante, em cada superfície, por meio de pressionamento, por 10 segundos, da placa RODACTM (com inibidor do quaternário de amônio), permitindo a contagem da carga microbiana inicial, sendo considerado como o controle.

O protocolo para aplicação da água ozonizada, considerou-se três fricções das superfícies como descritas no estudo de Rigotti & Ferreira (2015)⁵. Foram utilizados tecidos não tecidos (TNT) umedecido com água ozonizada, produzida por torneiras DOCOL®, instaladas próximas aos leitos. De cada torneira, a concentração do ozônio na água era monitorada com o auxílio do conjunto colorimétrico CHEMets® KIT Ozone (K-7404), seguindo-se a instrução do fabricante, Figura 2.



Figura 2- Conjunto colorimétrico CHEMets® KIT Ozone (K-7404).

Após 5 minutos da aplicação e fricção da água ozonizada nas superfícies, novo *imprint* por pressionamento da placa RODAC™ era feito seguindo os mesmos critérios, porém na área oposta do quadrante delimitado. Este cuidado garantiu a análise sem viés quanto à redução da carga microbiana por ação mecânica da coleta inicial.

Após as coletas, as placas foram acondicionadas em caixas herméticas e transportadas ao Laboratório de Microbiologia, do Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), para o processamento microbiológico. As placas RODAC™ foram incubadas por até sete dias, em estufa bacteriológica a 35°C, com subsequente contagem dos microrganismos (fungos filamentosos, leveduras e bactérias), caso presentes.

Para a análise estatística, inicialmente utilizou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, que mostrou que os dados não seguiam distribuição normal. Assim, o teste de Wilcoxon foi realizado para comparação das médias de contagem de UFC antes e após a limpeza com água ozonizada, com valor- $p \leq 0,05$ considerado significativo.

Resultados

A análise da quantidade de ozônio na água foi realizada no momento de cada coleta, com registros que variaram entre 0,5 e 0,6 ppm.

Os dados obtidos das culturas mostraram que, inicialmente, todas as superfícies testadas estavam contaminadas com microrganismos, com ampla variação da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC), com nível de contaminação entre 1 e 190 UFC, por amostra. A média de UFC para cada superfície foi de 47 colônias, para a grade; 44, para o monitor; 31,

para a gaveta; 25, para a bomba; e 22, para a mesa. Após higienização com água ozonizada, todas as superfícies demonstraram uma diminuição significativa da carga microbiana (Figura 1). O percentual médio de redução microbiana pós-higienização foi: 98,66%, para o monitor; 96,19%, para bomba; 83,33%, para a gaveta; 83,26%, para a grade; e 78,82%, para a mesa.

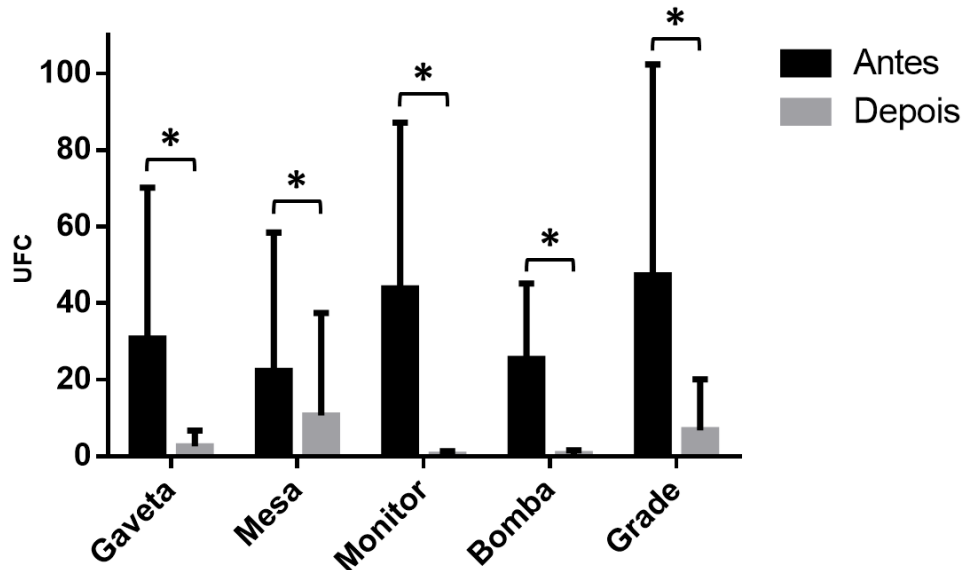


Figura 1. Contagem de UFC das superfícies testadas, antes e após a higienização com água ozonizada. As barras correspondem às médias, as linhas correspondem ao desvio padrão e, o asterisco, as diferenças estatisticamente significativas.

Discussão

Os protocolos de higiene e limpeza hospitalar atuais vêm sendo analisados e despontando como atividade essencial, não só para segurança do paciente, mas dos profissionais de saúde. A busca de melhores recursos e aperfeiçoamento de atividades de limpeza e desinfecção tornam-se obrigadoriedades cada vez mais importantes, uma vez que falhas nos processos podem ter como consequência a disseminação de microrganismos do ambiente para o paciente, colocando em risco a segurança de todos. Estudos têm demonstrado que atenção sobre higienização hospitalar, classificação das áreas, produtos, métodos e técnicas de execução das atividades, frequência de execução do serviço, se constituem como boas práticas, porém muitas variáveis comprometem a qualidade final dos protocolos padrões.¹⁴ No atual estudo, fica comprovada a existência de quebra de barreiras no ambiente original estudado, uma vez que todas as amostras de diferentes superfícies apresentaram crescimento de bactérias.

A unidade de realização do estudo foi UTI, sendo que alguns leitos passaram por limpeza concorrente e outros limpeza terminal antes do momento da coleta. Como consequência, foram registradas amplas variações quanto às unidades formadoras de colônias das áreas originais (antes da limpeza com água ozonizada). Em qualquer um destes procedimentos, o tratamento físico/mecânico e o químico, com quaternários de amônio, constituíram as práticas de limpeza e desinfecção de superfícies. Conforme demonstrado em estudos anteriores, a permanência de microrganismos em superfícies, tem como causa múltiplos fatores, a saber: falhas dos processos que atuam os recursos humanos, produtos químicos sem efetividade, bem como indutores de resistência antimicrobiana, e constante fonte humana e ambiental de microrganismos de colonização ou infecção.¹⁵⁻¹⁷

A ação da água ozonizada apresentou alto poder degermante, imediatamente à sua formação, com tempo rápido de ação contra bactérias, fungos e vírus. Devido ao seu amplo espectro de ação, o ozônio pode ser utilizado para remover bactérias resistentes e genes de resistência do ambiente.¹⁸

Outra vantagem do uso do ozônio pode estar no controle de biofilmes bacterianos. Um estudo mostrou resultados promissores do uso da água ozonizada para remoção de biofilmes bacterianos, porém na área alimentícia.¹⁹ Estudos adicionais ainda são necessários para avaliar a atividade da água ozonizada sobre biofilmes em ambientes hospitalares, assim como as concentrações ideais de ozônio e o tempo de exposição. Dados preliminares de um estudo realizado por nosso grupo de pesquisa comprovou que, após 10 segundos de contato, houve redução parcial ou total de células microbianas, mesmo para grupos de origem hospitalar e resistentes aos antimicrobianos, como exemplo, *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (dados submetidos para publicação).

Conclusão

Em conclusão, este estudo demonstrou que superfícies de hospitalares de alto contato estão sujeitas a contaminação por microrganismos, mesmo após passarem pelos protocolos de limpeza convencionais. A água ozonizada mostrou ter potencial para reduzir significativamente a contaminação microbiana dessas superfícies. Apesar de mais estudos serem necessários, essa pode ser considerada uma estratégia adjuvante, factível para compor estratégias de limpeza e desinfecção.

Referências

1. Haque M, Sartelli M, McKimm J, Abu Bakar M. Health care-associated infections - An overview. *Infect Drug Resist* [Internet]. 2018; 11:2321–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30532565>. <https://doi.org/10.2147/IDR.S177247>
2. Villacís J, Lopez M, Passey D, Santillán MH, Verdezoto G, Trujillo F, et al. Efficacy of pulsed-xenon ultraviolet light for disinfection of high-touch surfaces in an Ecuadorian hospital. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2019; 19(1):575. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31269912/>. <https://doi.org/10.1186/S12879-019-4200-3>
3. Donskey CJ. Does improving surface cleaning and disinfection reduce health care-associated infections? *Am J Infect Control* [Internet]. 2013; 41(5 Suppl):S12–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23465603/>. <https://doi.org/10.1016/J.AJIC.2012.12.010>
4. Mitchell BG, Dancer SJ, Anderson M, Dehn E. Risk of organism acquisition from prior room occupants: A systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect* [Internet]. 2015; 91(3):211–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670115003126>. <https://doi.org/10.1016/J.JHIN.2015.08.005>
5. Rigotti MA, Ferreira AM, Nogueira MCL, Almeida MTG de, Guerra OG, Andrade D de. Avaliação de três técnicas de fricção de superfície para remoção de matéria orgânica. *Texto Context - Enferm* [Internet]. 2015; 24(4):1061–70. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-07072015000401061&lng=en&tlng=en. <https://doi.org/10.1590/0104-0707201500003690014>
6. Reddy SA, Reddy N, Dinapadu S, Reddy M, Pasari S. Role of ozone therapy in minimal intervention dentistry and endodontics - A review. *J Int Oral Heal JIOH* [Internet]. 2013; 5(3):102–8. Available from: </pmc/articles/PMC3769872/>.
7. Li CS, Wang YC. Surface germicidal effects of ozone for microorganisms. *Am Ind Hyg Assoc J* [Internet]. 2003; 64(4):533–7. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15428110308984851>. <https://doi.org/10.1080/15428110308984851>
8. Grignani E, Mansi A, Cabella R, Castellano P, Tirabasso A, Sisto R, et al. Safe and effective use of ozone as air and surface disinfectant in the conjuncture of covid-19. *Gases* [Internet]. 2021; 1(1):19–32. Available from: <https://www.mdpi.com/2673-5628/1/1/2/htm>. <https://doi.org/10.3390/GASES1010002>
9. Gallo S, Scribante A. Ozone therapy in dentistry: From traditional applications towards innovative ones. A review of the literature. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* [Internet]. 2021; 707(1):012001. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/707/1/012001>. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/707/1/012001>
10. Skowron K, Walecka-Zacharska E, Grudlewska K, Kwiecińska-Piróg J, Wiktorczyk N, Kowalska M, et al. Effect of selected environmental factors on the microbicidal effectiveness of radiant catalytic ionization. *Front Microbiol* [Internet]. 2019; 10:3057. Available from: </pmc/articles/PMC6989485/>. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.03057>
11. Demir F, Atguden A. Experimental investigation on the microbial inactivation of domestic well drinking water using ozone under different treatment conditions. *Ozone Sci Eng* [Internet]. 2015; 38(1):25–35. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2015.1074534>. <https://doi.org/10.1080/01919512.2015.1074534>
12. Martins RB, Castro IA, Pontelli M, Souza JP, Lima TM, Melo SR, et al. SARS-CoV-2

- Inactivation by Ozonated Water: A Preliminary Alternative for Environmental Disinfection. *Ozone Sci Eng* [Internet]. 2020; :1–4. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01919512.2020.1842998>.
<https://doi.org/10.1080/01919512.2020.1842998>
13. Breidablik HJ, Lysebo DE, Johannessen L, Skare, Andersen JR, Kleiven OT. Ozonized water as an alternative to alcohol-based hand disinfection. *J Hosp Infect* [Internet]. 2019; 102(4):419–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30731184>.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.01.026>
 14. Santos-Junior AG, Ferreira AM, Frota OP, Rigotti MA, Barcelos L da S, Lopes de Sousa AF, et al. Effectiveness of surface cleaning and disinfection in a brazilian healthcare facility. *Open Nurs J* [Internet]. 2018; 12(1):36–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29643951/>.
<https://doi.org/10.2174/1874434601812010036>
 15. Lax S, Sangwan N, Smith D, Larsen P, Handley KM, Richardson M, et al. Bacterial colonization and succession in a newly opened hospital. *Sci Transl Med* [Internet]. 2017; 9(391):eaah6500. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.aah6500>.
<https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAH6500>
 16. Gildo MGP, Vandesmet LCS, Santos CRB dos, Fraga EG de S, Morais ICO de. Avaliação da eficácia antimicrobiana de desinfetantes utilizados na rotina de limpeza hospitalar. *Rev Expressão Católica Saúde* [Internet]. 2018; 2(2):34–9. Available from: <http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/recsaude/article/view/2211>. <https://doi.org/10.25191/RECS.V2I2.2211>
 17. da Silva EM, Sciuniti Benites Mansano E, de Souza Bonfim-Mendonça P, Olegário R, Tobaldini-Valério F, Fiorini A, et al. High colonization by *Candida parapsilosis* sensu stricto on hands and surfaces in an adult intensive care unit. *J Med Mycol* [Internet]. 2021; 31(2):101110. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1156523320302511?via%3Dihub>.
<https://doi.org/10.1016/J.MYCMED.2020.101110>
 18. Wu Y, Chen Z, Wen Q, Fu Q, Bao H. Mechanism concerning the occurrence and removal of antibiotic resistance genes in composting product with ozone post-treatment. *Bioresour Technol* [Internet]. 2021; 321:124433. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852420317077?via%3Dihub>.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2020.124433>
 19. Korany AM, Hua Z, Green T, Hanrahan I, El-Shinawy SH, El-kholy A, et al. Efficacy of ozonated water, chlorine, chlorine dioxide, quaternary ammonium compounds and peroxyacetic acid against *Listeria monocytogenes* biofilm on polystyrene surfaces. *Front Microbiol* [Internet]. 2018; 9:2296. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.02296>.
<https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02296>

4 CONCLUSÕES

Considerando-se os resultados obtidos nestes estudos, pode-se concluir que:

- A água ozonizada produzida por uma torneira comercial, na concentração de 0,5 a 0,6 ppm apresenta eficácia na remoção de microrganismos presentes em superfícies hospitalares.
- As superfícies hospitalares, mesmo após passarem por protocolos de limpeza, estão sujeitas a contaminação por microrganismos. Sendo assim, a água ozonizada mostra-se como um composto promissor para ser utilizado como estratégia adicional aos protocolos de limpeza e desinfecção de superfícies hospitalares.
- A especificidade da ação antimicrobiana da água ozonizada, contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, abre novas perspectivas de controle de microrganismos em superfícies animadas ou inanimadas.
- A ação antimicrobiana da água ozonizada contra fungo filamentosos de importância clínica, é de extrema importância, pois ambientes hospitalares que recebem pacientes imunossuprimidos poderão passar por processos de desinfecção, minimizando a transferência destes organismos.
- A ação surpreendente da água ozonizada contra *Candida auris* poderá despertar interesse aos setores públicos de saúde, uma vez que sua permanência em ambiente poderá expor a graves riscos à saúde humana, evento de preocupação mundial.