

## Ozônio: avaliação de controle microbiano em canais de água do equipo odontológico

### Ozone: microbial control evaluation in dental equipment waterlines

*Nathalia Martins Amaral<sup>1</sup>, Beatriz Hikari Monteiro Iwai<sup>1</sup>, Anastácia Nikolaos Deonas<sup>3</sup>, Angela Hitomi Kimura<sup>3</sup>, Gerson Nakazato<sup>4</sup>, Helio Junji Shimozaço<sup>5</sup>, Renata Katsuko Takayama Kobayashi<sup>4</sup>, Jennifer Germiniani Cardozo<sup>3</sup>, Sofia Yukie Fujita<sup>6</sup>, Mateus Tetsuo Fujita<sup>7</sup>, Berenice Tomoko Tatibana<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Estudante do Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio, IFPR, Câmpus Londrina.

<sup>2</sup> Professora IFPR/Câmpus Londrina, área Ambiente Saúde/Saúde Bucal.

<sup>3</sup> Aluna Programa de Pós-graduação em Microbiologia/Laboratório de Bacteriologia/CCB/UEL.

<sup>4</sup> Professor(a) Programa de Pós-graduação em Microbiologia/Laboratório de Bacteriologia/CCB/UEL.

<sup>5</sup> Pesquisador colaborador, projeto vinculado/IFPR.

<sup>6</sup> Estudante de graduação odontologia UNESP/Araçatuba

<sup>7</sup> Estudante de graduação Medicina UFF/Niterói

#### Endereço para Correspondência:

Berenice Tomoko Tatibana

Instituto Federal do Paraná-Câmpus Londrina

R. João XXIII, 600 - Judith, Londrina - PR, 86060-370

E-mail: berenice.tatibana@ifpr.edu.br

#### Resumo

O presente estudo avaliou a aplicação do Ozônio como agente de controle microbiano, comparando a água ozonizada e a água clorada. As bactérias utilizadas de *Escherichia coli* 042, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 foram aplicadas em mangueiras dos canais/linhas de água, simulando o ambiente do equipo odontológico e incubadas por 24 horas, os dados obtidos foram submetidos a uma comparação, em função do inóculo inicial ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) e os resultados expressos em porcentagem de redução. A aplicabilidade do ozônio para o uso nos canais de água do equipo odontológico em substituição à água clorada ficou evidenciado para as bactérias utilizadas no estudo.

**Palavras-Chave:** ozônio; equipo odontológico; análise microbiana; contaminação.

#### Abstract

The present study evaluated the application of Ozone as a microbial control agent, comparing ozonated water and chlorinated water. Bacteria samples, consisting of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*, were applied to waterlines hoses, simulating the environments of dental equipment. They were then incubated for 24 hours, and the data obtained was submitted for comparison, regarding the initial inoculum ( $1,5 \times 10^8$  CFU/mL) and the results expressed in percentage of reduction. It evidenced the effectiveness of ozone for use in the unit waterlines of dental equipment in place of chlorinated water for the bacteria used in this study.

**Key words:** ozone; dental equipment; microbial analysis; contamination.

## INTRODUÇÃO

O processo de assistência à saúde enfrentou a pandemia pelo SARS-Cov-2 com muitos desafios, resultando em mortes acumuladas de quase 690.000 no fim do ano de 2022, segundo dados do Ministério da Saúde (MS) <sup>(1)</sup>.

Na saúde bucal, o manejo das vias aéreas é indispensável. O contato direto com a cavidade oral e a produção de aerossóis nos procedimentos levam a um aspecto que não pode ser contornado pelos profissionais da odontologia: a contaminação direta por meio da exposição a gotículas respiratórias expelidas, contendo vírus, por uma pessoa infectada <sup>(2; 3, 4)</sup>. Diante disto, torna-se evidente a necessidade de se impor soluções de controle ambiente e das medidas de Biossegurança na assistência odontológica. Isto porque, como aconteceu na pandemia pelo SARS-Cov-2, o Conselho Federal de Odontologia (CFO) orientou a suspensão dos atendimentos clínicos eletivos, permanecendo as urgências e emergências, impactando pacientes e profissionais <sup>(5, 6)</sup>.

Os pacientes classificados como “Necessidades Especiais” como portadores de comorbidades, irradiados, transplantados, oncológicos, gestantes, imunocomprometidos foram os mais atingidos por esta falta de atendimento, causada pelas condições não seguras para a manutenção da assistência no período da pandemia pelo SARS-Cov-2 <sup>(7, 8)</sup>.

Neste contexto, diante dessa vulnerabilidade, desenvolveu-se no Instituto Federal do Paraná (IFPR), um projeto de inovação tecnológica denominado "*Modelo estratégico 4.0 para desenvolver soluções na extensão tecnológica para área de saúde e biossegurança*". Este, propõe utilizar o gás ozônio em um ambiente controlado, automatizado e com medidas adequadas para um atendimento seguro, de modo a colaborar para a não interrupção da assistência odontológica em tempos de pandemias ou risco das síndromes respiratórias.

O presente trabalho é parte desta busca, avaliando inicialmente a descontaminação dos canais de água que, no equipo odontológico, pode ser uma fonte de risco à vida caso não haja um processo adequado de controle microbiano <sup>(9)</sup>.

No Brasil, está recomendado pelo Ministério da Saúde (MS) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o uso do hipoclorito de sódio como protocolo para controle e redução da contaminação da água do equipo odontológico <sup>(2)</sup>. O cloro é um agente contaminante do meio ambiente - prejudicial ao ecossistema - além de, também, ser tóxico para quem o manuseia, representando um risco para o ser humano em vários aspectos <sup>(10)</sup>.

O ozônio entre suas vantagens, diferente do cloro, não apresenta resíduos ao se decompor e se transforma em oxigênio - podendo ser caracterizado como um contribuinte para a sustentabilidade ambiental. Nesse sentido, é uma tecnologia verde, disponível e de baixo custo, o que o torna um substituto interessante para o emprego do cloro no controle microbiano dos canais de água do equipo odontológico, além de já ser amplamente empregado em diversas áreas da assistência à saúde, processos fabris, controle ambiente, etc. <sup>(11, 12, 13, 14)</sup>.

Deste modo, este estudo avaliou a efetividade da água ozonizada para a descontaminação e o controle microbiano dos canais de água do equipo odontológico em comparação à água clorada.

## Material e Métodos

### *Amostras bacterianas*

Os seguintes isolados de bactérias de referência foram utilizados no trabalho: *Escherichia coli* enteronegativa 042, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. As amostras pertencem à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Básica e Aplicada, da Universidade Estadual de Londrina e foram estocadas em *Brain Heart Infusion* (BHI) (Difco™) contendo 20% de glicerol, à -20 °C.

### *Análise in situ da água ozonizada e avaliação da descontaminação*

#### *Preparo Prévio*

Para o experimento foram utilizados canais de água/mangueiras, que caracterizam parte do equipo odontológico, a fim de simular a contaminação microbiana e a ação da água ozonizada sobre a mesma. Essas linhas de água/mangueiras foram cortadas em um tamanho de 8 cm.

Além da água ozonizada, foi utilizada água clorada (a 1 mg/L Cl), água de osmose reversa e solução salina. Quanto aos meios de cultivo, foram usados o MacConkey (Kasvi) - para as bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* -, e Ágar Sal Manitol (Kasvi) - para a bactéria *Staphylococcus aureus* -, preparados de acordo com instruções do fabricante. Para o controle negativo, foi utilizada solução de NaCl 09%.

Para o preparo da água ozonizada foi utilizada a água de osmose reversa, em torno de 14°C, mantida em refrigeração até o momento do uso. A água foi transferida para uma coluna de vidro (Coluna em vidro e difusor em vidro, com microbolhas, com catalisador de ozônio residual, Ozone&Life), diluindo o Ozônio na água, utilizando o gerador de gás ozônio (Gerador de Ozônio – Modelo O&L Portátil, Ozone & Life), conforme instruções do fabricante, concentração máxima do aparelho de 72 mg/L, por cinco minutos, com gás oxigênio medicinal (Oxicompany - Londrina/PR).

#### *Procedimentos*

O preparo do inóculo inicial, se deu por meio da suspensão da colônia bacteriana com auxílio da alça bacteriológica em caldo Mueller-Hinton (Difco™). O padrão de turvação correspondeu a 0.5 da escala de Mac Farland, que corresponde a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml.

Os inóculos deste preparado inicial, foram colocados em duplicatas em oito tubos que continham: água ozonizada, água de osmose reversa, água clorada e solução salina, e, assim, aplicados nas mangueiras cortadas de 8 cm, na quantidade de 100 µL. Incubou-se por 24 horas.

Após este período, lavou-se cada tubo com solução salina 0,9% e, em seguida, foi feita a aplicação de água ozonizada, clorada, de osmose reversa e solução salina individualmente, nestas mangueiras. Em cada uma, foram aplicados 100 µL que, após 5 minutos em contato, foi coletada 100 µL de cada amostra.

Com 100 µL da amostra coletada, realizou-se a diluição de -1 à -8 em microtubos contendo 900 µL de solução salina. Em seguida, foi plaqueado em meios de cultura (ágar MacConkey e Ágar sal Manitol) para as bactérias *E. coli* e *P. aeruginosa* e *S. aureus*, respectivamente.

Por fim, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 24h, a 37°C.

### *Análise dos resultados*

As colônias foram contadas e o resultado expresso em UFC/mL. A referência foi dada pelo inóculo inicial e o resultado do percentual de redução (R) foi determinado conforme a expressão:

$$R = (C_{\text{após}} - I) / I \times 100$$

## RESULTADOS

A *Tabela 1* apresenta o resultado da redução da carga microbiana nos canais de água avaliados, em relação a cada tipo de microorganismo e a cada tipo de água utilizada.

Os resultados expressos e discutidos recomendam a utilização do ozônio em substituição ao cloro - que é tóxico em seu uso e manipulação - e coadunam com outros estudos que também argumentam em favor da eficácia da ação microbicida do ozônio <sup>(2, 12, 15, 16, 17; 18, 19)</sup>.

**Tabela 1.** Porcentagem de redução da carga microbiana em 24h correspondente ao inóculo de  $1,5 \times 10^7$  UFC/mL\*. Para esta comparação, foi considerada a contagem obtida pela menor diluição. Demonstra-se a eficácia da água ozonizada perante a água clorada em relação às três bactérias.

	Água ozonizada (% de Redução)	Água clorada (% de Redução)
EAEC 042	99,9	99,0
<i>S. aureus</i> - ATCC 29213	99,0	90,0
<i>P. aeruginosa</i> - ATCC 25853	99,0	90,0

(\*) UFC/mL = média do no. de colônias x fator de diluição (positivo) x fator alíquota. Nas demais águas testadas não houve crescimento.

## DISCUSSÃO

O estudo de Alkhulaifi <sup>(9)</sup> destaca a necessidade de monitoramento regular da qualidade microbiológica da água nas linhas de água do equipo odontológico, incluindo a detecção de patógenos oportunistas, a prevenção da estagnação da água e o uso de vários procedimentos para reduzir a formação de biofilme. É apontado a necessidade de um protocolo de fácil execução, baixo custo e seguro para a desinfecção e controle da água nos equipos, bem como a realização de mais estudos sobre a exposição à endotoxina e sua prevenção.

No presente estudo, com a análise dos dados obtidos, a eficiência da água ozonizada foi demonstrada diante das bactérias analisadas, de modo que, ao se equiparar

com o atual padrão de recomendação - a água clorada - apresentou-se mais eficaz no controle microbiano (com destaque para a *E. coli*). Estes resultados argumentam a favor da proposição da água ozonizada na rotina clínica para manutenção da cadeia de biossegurança no consultório do dentista.

No que se refere à aplicabilidade, a adoção da água ozonizada se mostra interessante em termos econômicos, sociais e ambientais, pois apresenta um custo-benefício mais atrativo (tanto no que tange ao próprio ozônio quanto ao equipo odontológico, uma vez que o cloro é um agente oxidante) e uma melhor condição para os profissionais e o meio ambiente, em termos de saúde e poluição ambiental.

## CONCLUSÃO

Conclui-se pela indicação do ozônio para o uso nos canais de água do equipo odontológico em substituição à água clorada. Se faz necessário novos estudos para análise de outros parâmetros aplicados à prática clínica odontológica e à padronização e validação microbiológica de forma ampliada.

## AGRADECIMENTOS

Pelos apoios institucionais: PROEPPI/IFPR e Instituto Federal de Educação Profissional, Científica e Tecnológica do Espírito Santo (IFES)/SETEC/MEC pelo Edital IFES n.º 05/2020 – Empreendedorismo Inovador com foco na economia 4.0. que tornaram possíveis este estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Painel Coronavírus. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em: 12 dez. 2022.
2. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Serviços odontológicos: prevenção e controle de riscos. 2. ed. Brasília, DF: Ed. ANVISA, 2006. (Série A. Normas e manuais técnicos).
3. MUNIZ, IAF, VAN DER LINDEN L, SANTOS ME, RODRIGUES RCS, SOUZA JR, OLIVEIRA RAS, CASTELLANO LRC, BONAN PRF. SARS-CoV-2 and Saliva as a Diagnostic Tool: a real possibility. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada, [S.L.], v. 20, n. 1, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/pboci.2020.126>. Acesso em: 13 dez. 2022.
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Modes of transmission of virus causing COVID-19: implications for IPC precaution recommendations. [S.l.]: WHO, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>. Acesso em 12 dez. 2022.
5. ASSOCIAÇÃO DE MEDICINA INTENSIVA BRASILEIRA (AMIB). Recomendações AMIB/CFO para enfrentamento da Covid-19 na odontologia: manual

- atualizado. 3. ed. [São Paulo]: AMIB, 2020. Disponível em: <https://website.cfo.org.br/wpcontent/uploads/2020/07/Recomendac%C3%A7%C3%A3o-AMIB-CFO-Covid-19-atualizada-.pdf>. Acesso em 12 dez.2022.
- 6.MEDEIROS MS, SANTOS HLF, BARRETO JO, FREIRE JCP, DIAS-RIBEIRO E. COVID-19 pandemic impacts to dentistry. *Revista Gaúcha de Odontologia*, Campinas, v. 68, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rgo/a/gPmnq5cfmRvJdCcmHksjTSx/?lang=en>. Acesso em: 17 ago. 2022.
- 7.AL-QUTEIMAT OM, AMER AM. The impact of the COVID-19 pandemic on cancer patients. *Am. J. Clin. Oncol.*, [S.l.], v. 43, n. 6, p. 452-455, jun. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7188063/>. Acesso em: 01 nov. 2022.
- 8.MOHAMMED AH, BLEBIL A, DUJAILI J, RASOOL-HASSAN BA. The risk and impact of COVID-19 pandemic on immunosuppressed patients: cancer, HIV, and solid organ transplant recipients. *AIDS Rev.*, [s.l.], v. 22, n. 3, p. 151-7, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33118527/>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- 9.ALKHULAIFI MM, ALOTAIBI DH, ALAJLAN H, BINSHOAIL T . Assessment of nosocomial bacterial contamination in dental unit waterlines: Impact of flushing. *Saudi Dent J.*, Riad, V. 32, n. 2, p. 68-73, fev.2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7016225/>. Acesso em 12 dez.2022.
- 10.BARROS, WM. Riscos associados à utilização do agente desinfetante cloro no tratamento de água potável: uma revisão de literatura. 2018. 64 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Civil) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Cajazeiras, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ifpb.edu.br/bitstream/177683/1251/1/TCC%20%20Wildson%20de%20Moura%20Barros.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2022.
- 11.BOCCI, Velio. *Ozone: a new medical drug*. 2. ed. Dordrecht: Springer; 2010.
- 12.KIM J-G; YOUSEF A, DAVE S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *Journal of Food Protection*, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-62.9.1071>. Acesso em: 12 dez. 2022.
- 13.MACÊDO, Jacqueline da Silva. Estudo de processo sustentável, utilizando ozônio, no beneficiamento de peças confeccionadas com jeans, para atender às tendências da moda. 2016. 87 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Design) – Universidade Federal de Pernambuco, Caruaru, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/31909>. Acesso em 12 dez. 2022.
- 14.MONTENEGRO, JLPS. O uso e aplicação do ozônio em atividade residenciais: uma revisão da literatura. 2021. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Gestão Ambiental) – Instituto Federal de Educação da Paraíba, João Pessoa, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ifpb.edu.br/jspui/handle/177683/1869>. Acesso em: 12 dez. 2022.

- 15.LAMB TA, STROHER AL, VALDAMERI A, BIOLCHI V, MACIEL MJ. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do gás ozônio. Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, Aracaju, v. 12, n. 6, p. 152-159, 2021. Disponível em: <https://www.sustenere.inf.br/index.php/rica/article/view/5666/2938>. Acesso em: 12 dez. 2022.
  
- 16.NOGALES, CG. Parâmetros da ação antimicrobiana e da citotoxicidade do ozônio para aplicação na Endodontia. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23145/tde16012012142900/publico/CarlosGoesNogales.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2022.
  
- 17.PEREIRA SSP, OLIVEIRA P, OLIVEIRA HM, TURRINI RNT, LACERDA RA. Desinfecção com hipoclorito de sódio em superfícies ambientais hospitalares na redução de contaminação e prevenção de infecção: revisão sistemática. Rev. Esc. Enferm. USP, São Paulo, v. 49, n. 4, p. 681-688, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/reusp/a/3zd5wCqFcXr4sTPDXd56Lsm/?lang=pt>. Acesso em: 12 dez. 2022.
  
- 18.TERAO R, TERAOC, MORIK, MATSUI M. Technical note: 100% ozone-treatment system of bath water. Ozone Science and Engineering, v. 25, n. 4, p. 345-349, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/01919510390481667>. Acesso em: 13 dez. 2022.
  
- 19.WOLLHEIM C, GONÇALVES ES, LOPESKC, BEGA A. Efeito microbicida do ozônio gasoso em *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Revista Ibero-Americana de Podologia, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 121, 31 mar. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.36271/iajp.v2i1.22>. Acesso em: 05 set. 2022.