

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**CINTIA RODRIGUES DE OLIVEIRA BENEDICTO**

**Desinfecção de Superfície Metálica Pertencente a um  
Porta Instrumental Clínico Cirúrgico Utilizando a Água  
Ozonizada**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**

**São José dos Campos, Fevereiro/2023**

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**CINTIA RODRIGUES DE OLIVEIRA BENEDICTO**

**Desinfecção de Superfície Metálica Pertencente a um  
Porta Instrumental Clínico Cirúrgico Utilizando da  
Água Ozonizada**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da  
Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientador Prof. Dr. Carlos José de Lima

Co-orientadora: Profa. Dra. Adriana Barrinha Fernandes Moretti

**São José dos Campos, Fevereiro/2023**

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**CINTIA RODRIGUES DE OLIVEIRA BENEDICTO**

**Desinfecção de Superfície Metálica Pertencente a um Porta Instrumental Clínico Cirúrgico Utilizando a Água Ozonizada**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Carlos José de Lima**

Orientador

Mestrado em Engenharia Biomédica

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof. Dra. Adriana Barrinha Fernandes**

Co-Orientadora

Universidade Anhembi Morumbi

**São José dos Campos, fevereiro/2023**

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

**CINTIA RODRIGUES DE OLIVEIRA BENEDICTO**

Graduada em Enfermagem pela Universidade UNIP, Pós-graduada em PréNatal, Pós-graduada em Obstetrícia, Pós-graduada em Urgência e Emergência, Mestranda em Engenharia Biomédica pela Universidade Anhembí Morumbi.

Ficha Bibliográfica elaborada pela biblioteca UAM

Com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B399d      Benedicto, Cintia Rodrigues de Oliveira  
Desinfecção de superfície metálica pertencente a um porta  
Instrumental clínico cirúrgico utilizando a água ozonizada /  
Cintia Rodrigues de Oliveira Benedicto – 2023.  
52f ; 30 cm.

Orientador: Carlos José de Lima.  
Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade  
Anhembí Morumbi, São José dos Campos, 2023.

Bibliografia: f. 38-42.

1. Engenharia Biomédica. 2. Superfície para Desinfecção.  
3. Bioluminescência. 4. Água Ozonizada. 5. Desinfecção. I.

Título.

CDD 610.28

Bibliotecária Iara Neves CRB 8/8799

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela minha vida e pelos meus sonhos. Pois sem sonhos, a vida não tem brilho. Sem metas, os sonhos não têm alicerces. Sem prioridade, os sonhos não se tornam reais. Sonhe, trace metas, estabeleça prioridade e corra riscos para executar seus sonhos. Melhor é errar por tentar do que errar por se omitir! Não tenha medo dos tropeços da jornada. Não podemos esquecer que nós, ainda que incompleto, fomos o maior aventureiro da história e tentamos fazer o melhor.

Agradeço a meu orientador Prof. Dr. Carlos José de Lima pela confiança e credibilidade a mim conferidas, pelos ensinamentos, dedicação, presteza e competência a qual conduz sua profissão fazendo com que eu possa ser uma profissional diferenciada.

Agradeço a minha co-orientadora Profa. Dra. Adriana Barrinha Fernandes Moretti pela paciência, comprometimento e todo o conhecimento compartilhado, além do acompanhamento em toda a etapa de desenvolvimento e aplicação do protocolo experimental.

Aos demais professores Henrique Carvalho e Túlia de Souza Botelho Almeida, agradeço pelo comprometimento em todos os ensaios do protocolo experimental e imensamente pela oportunidade, apoio e aprendizado que me foram concedidos por cada um de vocês.

Agradeço aos meus pais José e Fátima por me tornar a pessoa que sou hoje, pela confiança e amor que me fortalece, por serem exemplo de coragem e persistência.

Ao meu marido Clodoaldo que por mais difíceis que fossem as circunstâncias sempre teve paciência e manteve-se ao meu lado.

À minha amiga e coordenadora Vera que nos momentos mais difíceis e alegres, diante de muitos sorrisos, insegurança e nervosismo, sempre pude contar com sua amizade, palavra amiga, elogios e críticas, trocas de experiência e conhecimentos, me compreendendo por toda nossa caminhada.

À colega Maria Verônica que se propôs a colaborar para minha formação, me ajudando no processo de ozonização sempre disposta e positivamente me encorajando para que eu pudesse concluir as pesquisas.

Agradeço à Nídia Macedo que, desde o primeiro contato, sempre demonstrou sua simpatia, atenção, eficiência e agilidade em responder e atender às dúvidas e solicitações sendo fundamentais nessa caminhada.

Agradeço também ao coordenador Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro pela dedicação empenho e organização que tem frente Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica.

Agradeço a todos que me ajudaram direta e indiretamente aqui não citados, nesse meu processo de formação e a todos que me ajudaram em oração para que esse sonho se realizasse.

Minha gratidão aos demais professores pela oportunidade, apoio e aprendizado que me foram concedidos por cada um de vocês., que engrandecem e enriquecem o PPG em Engenharia Biomédica.

## RESUMO

O ozônio é um poderoso agente antimicrobiano que devido à sua capacidade oxidante, apresenta efetividade microbicida contra os microrganismos. O ozônio se caracteriza de início em produzir danos sobre a membrana do microrganismo, causando posteriormente mais lesões em outras estruturas, resultando em sua inativação. O uso da água ozonizada como agente microbicida, pode ser utilizado como substância desinfetante de superfícies de ambiente clínico. O objetivo desse estudo foi de verificar a eficácia microbicida da água ozonizada sobre uma superfície metálica, pertencente a um porta instrumental cirúrgico pós procedimento de cesariana, como comparação foi utilizado álcool 70%. Como elemento alvo para desinfecção foi adotado o porta instrumental cirúrgico de aço inoxidável, o protocolo de higienização desse utensílio foi estabelecido em 2 etapas, a primeira utilizando detergente enzimático, a segunda usando água ozonizada como desinfetante terminal, para fins de comparação foi utilizado o álcool 70%. Avaliação do grau de desinfecção foi realizada usando o equipamento Hygiena, o qual atua pelo método de bioluminescência. Para essa verificação utilizou-se sondas "swabs" específicas compatíveis ao aparelho já citado, com este utensílio foi realizado o esfregaço sobre a superfície alvo de 100cm<sup>2</sup>, posteriormente essa sonda foi inserida no equipamento afim de indicar a leitura quantitativa de desinfecção sob modo indireto em Unidade Relativa de Luz (URL), essa unidade apresenta valor diretamente proporcional com a quantidade de material orgânico adenosina trifosfato, atrelado ao material constituinte dos microrganismos, o valor limite para se considerar uma superfície devidamente desinfetada, deve ser abaixo de 100 URL. Os valores quantitativos em URL, usando água ozonizada como desinfetante indicaram expressiva desinfecção local, bem como também em se tratando do álcool 70%. A Análise dos dados comparando essas duas substâncias desinfetantes, revelaram que a água ozonizada foi mais efetiva. A água ozonizada apresentou ser um eficiente agente desinfetante em utensílio metálico utilizado como porta instrumental cirúrgico, a vantagem do uso desse protocolo é que ele apresenta apelo ambiental adequado se apresentando como atóxico durante seu uso.

**PALAVRAS-CHAVE:** Superfície para Desinfecção. Bioluminescência. Água Ozonizada. Desinfecção.



## **ABSTRACT**

### **Metal Surface Disinfection Belonging to a Clinical Surgical Instrument Holder Using Ozonized Water**

Ozone is a powerful antimicrobial agent that, due to its oxidizing capacity, has microbicidal effectiveness against microorganisms. Ozone is characterized at first by producing damage to the membrane of the microorganism, later causing more damage to other structures of these cells, resulting in their inactivation. The use of ozonated water as an agent can be used as a disinfectant substance for surfaces in a clinical environment. The aim of this study was to verify the disinfectant efficacy using ozonated water on a metallic surface, belonging to a surgical instrument holder after the cesarean procedure, as a comparison, 70% alcohol was used. As a target element for disinfection, the stainless steel surgical table was adopted, the hygiene protocol of this utensil was established in 2 stages, the first using enzymatic detergent, the second using ozonized water as a terminal disinfectant, for comparison purposes it was used 70% alcohol. Quantitative disinfection degree evaluation was performed using the Hygiena equipment, which operates by the bioluminescence method. For this cleaning verification, specific swab probes compatible with the aforementioned device were used, with this utensil a smear was carried out on the target surface of 100cm<sup>2</sup>, later this probe was inserted into the equipment in order to indicate the quantitative disinfection reading indirectly in Relative Light Unit (RLU), this unit has a value directly proportional to the amount of adenosine triphosphate organic material, linked to the constituent material of the microorganisms, the percentage reduction evaluation was carried out considering the luminescence scale, was used as a disinfectant the ozonized water in compared to 70% alcohol, the threshold value to consider a surface properly disinfected must be below 100 RLU. The quantitative values in RLU, using ozonated water as a disinfectant indicated significant local disinfection, as well as in the case of 70% alcohol. Data analysis comparing these two microbicidal substances revealed that ozonated water was more effective. **DISCUSSION:** Ozonated water proved to be an efficient disinfectant in metallic utensil used as a surgical instrument holder, the advantage of using this protocol is that it has adequate environmental appeal, presenting itself as non-toxic during its use. **CONCLUSION:** The use of ozonated water as a disinfectant on a stainless steel metallic surface belonging to a surgical instrument table showed disinfectant efficacy resulting in a cleaning quality suitable for subsequent clinical/surgical use.

**KEYWORDS:** Disinfection Surface. Bioluminescence. Ozonized water. Disinfection.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática do protocolo de ozonização da água...	<b>27</b>
<b>Figura 2.</b> Fotografia do recipiente com água ozonizada .....	<b>28</b>
<b>Figura 3.</b> Curva de ozonização de água destilada com um volume inicial na fase líquida de 500 ml .....	<b>31</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores da escala URL das superfícies higienizadas a partir de um porta instrumental para cirurgia de cesariana .....	<b>32</b>
<b>Tabela 2.</b> Dados estatísticos dos valores de desinfecção especificados na escala URL .....	<b>33</b>
<b>Tabela 3.</b> Dados estatísticos considerando a eficiência de desinfecção .....	<b>34</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina Trifosfato
CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
EPI	Equipamento de Proteção Individual
HAV	Vírus da Hepatite
IRAS	Infecção Relacionada à Assistência à Saúde
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
NoV	Norovírus Humanos
NOx	Óxidos de Nitrogênio
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RLU	Unidades Relativas de Luz
RNA	Ácido Ribonucleico
RSS	Resíduos do serviço de saúde
URL	Unidades Relativas de Luz
UV	Ultravioleta
VOC	Compostos Orgânicos Voláteis
VRE	Enterococos Resistentes à Vancomicina

## SUMÁRIO

<b>1 Introdução.....</b>	<b>10</b>
<b>2 Revisão da Literatura.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Objetivos.....</b>	<b>26</b>
<b>2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>26</b>
<b>3. Materiais e Métodos.....</b>	<b>27</b>
<b>4. Resultados.....</b>	<b>30</b>
<b>5.Discussão.....</b>	<b>34</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>38</b>
<b>7.Referências.....</b>	<b>39</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>46</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Dados epidemiológicos apontam que no Brasil a Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS) é a quarta causa de mortalidade, destacando-se como uma das principais dificuldades encontradas a nível hospitalar e que ascendem sérios comprometimentos com reflexos na economia e na sociedade como um todo (Fontana RT, 2016).

As IRAS podem ser definidas como as infecções que ocorrem em pacientes durante a hospitalização, e em outros momentos, com diagnóstico confirmado por exames clínicos e de laboratório. Vários fatores podem influenciar na ocorrência das infecções hospitalares, tais como a fonte de infecção, o agente infeccioso, a via de transmissão, a susceptibilidade do hospedeiro e o meio ambiente (Oliveira AC *et al.*, 2011).

São tantos os investimentos em tecnologias em saúde, que não deveria haver tantas mortes causadas por IRAS, no entanto, não é o que acontece. É preciso investimentos nos profissionais que lidam com pacientes, que necessitam fazer uso destas tecnologias, para que a assistência prestada seja de qualidade e segura. Assim, o paciente fica menos tempo internado, os gastos são menores, o sofrimento dos pacientes e dos seus familiares diminui (Guimarães AC *et al.*, 2015).

Conforme a RDC nº 15 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, quanto às boas práticas para o processamento de produtos para saúde, os itens relevantes são: condições organizacionais, Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH), recursos humanos e atribuições, qualificação de equipamentos, infraestrutura, processos de limpeza, desinfecção química, esterilização, armazenamento e gerenciamento de resíduos (Giarola LB *et al.*, 2012).

É importante investimentos em programas educativos que sensibilizem os profissionais de saúde para sua prática assistencial, focando nos processos de limpeza hospitalar do ambiente, cuidados com equipamentos e adoção de boas práticas como a monitorização contínua da higienização das mãos, entre todos que tenham contato com o paciente, como forma de se reduzir a transferência de patógenos entre profissional, paciente e ambiente (Uribe-Salgado LG *et al.*, 2016).

Observa-se que a flora bacteriana transitória das mãos (contaminante e que coloniza camadas superficiais da pele) pode ser parcialmente removida durante a escovação da mão com água e sabão, ou uso de antisséptico, mas a regeneração

começa imediatamente e a antissepsia é acelerada quando as mãos estão enluvadas (Grumadas CES et al., 2011).

A profilaxia e o controle das IH podem ser evitadas com a adoção de medidas adequadas, realizadas de forma correta. A lavagem das mãos, tão importante, nem sempre é realizada seguindo as técnicas recomendadas. O uso de luvas também requer cuidados, que nem sempre são seguidos, como, por exemplo, com as mãos enluvadas, tocar equipamentos depois do manuseio de substâncias orgânicas (Oliveira AC et al., 2011).

É relevante a lavagem das mãos e deve acontecer antes e depois do contato com o paciente, antes de colocar as luvas e depois de retirá-las, quando se acaba de atender um paciente e se vai atender outro, entre os procedimentos que realiza, depois do contato com sangue ou líquido corporal, secreções e excreções. Muitas vezes a adesão dos profissionais de enfermagem a este procedimento é baixa, o que aumenta o risco de contaminação e infecção hospitalar (Fontana RT, 2016).

A infecção cruzada (por contato) é a peça principal na transmissão de patógenos, e a prática da higienização das mãos reduz drasticamente o número destes microrganismos, portanto, faz-se necessário a adoção desta medida preventiva, por parte da equipe de saúde e para que tal prática seja implantada no cotidiano dos profissionais (Giarola LB et al., 2012).

A luva é barreira usada para proteger o profissional e os pacientes, no entanto, o uso de luvas por longo período pode propiciar a proliferação de microrganismos no látex. Não manipular objetos como caneta, fichas, telefone, maçanetas de porta, calçando luvas. O uso de luvas não elimina a lavagem das mãos, que devem estar bem limpas antes de usá-las. Deve-se retirar as luvas logo em seguida do atendimento e descartá-las em local próprio (Uribe-Salgado LG et al., 2016).

Deve-se observar que a utilização do álcool-gel apresenta vantagens que contribuem para um cuidado mais seguro, como a economia no tempo de realização da prática e a não agressividade da pele do profissional, pois a solução alcoólica não retira a flora microbiana da pele (Oliveira AC et al., 2011). Esse cuidado com relação a higienização das mãos é muito importante, pois como é praticamente impossível o controle rígido do toque em superfícies e objetos em geral, tende a diminuir a possibilidade de transmissão microbiana.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

Procedimentos adequados para a desinfecção e esterilização são essenciais para o controle da infecção hospitalar, uma vez que a falha pode resultar na proliferação de doença no ambiente clínico, resultando em aumento de custo, morbidade e mortalidade. A desinfecção na prática hospitalar é obtida principalmente pela limpeza das superfícies pertencentes ao ambiente de saúde e equipamentos, por exemplo, a desinfecção de mesas, carrinhos, instrumentos, paredes e pisos, etc. (Singh M et al., 2019).

A desinfecção se notabiliza por um processo que remove e elimina de maneira expressiva muitos microrganismos patogênicos em objetos inanimados, com exceção de esporos bacterianos. A desinfecção é geralmente realizada pelo uso de produtos químicos líquidos. A eficácia da desinfecção é afetada por uma série de fatores, cada um dos quais pode anular ou limitar o desempenho do processo. Alguns dos fatores que afetam a eficácia da desinfecção envolve uma limpeza prévia do objeto; a carga orgânica e inorgânica presente; o tipo e nível de contaminação microbiana, a concentração e o tempo de exposição ao germicida, o material que constitui o utensílio, a presença de biofilmes, a temperatura e o pH da substância química que está sendo utilizada durante o procedimento para o processo de desinfecção (Rutala WA, Weber DJ, 2015).

Os microrganismos podem aderir a uma grande variedade de superfícies, incluindo vidro, metais, muitos polímeros diferentes. Na verdade, é praticamente impossível desenvolver uma superfície que não possa ser colonizada por microrganismos, tornando-a resistente à bio-incrustação e, ao mesmo tempo, inofensiva para os humanos e o meio ambiente. Quando uma célula bacteriana planctônica avança em direção a uma superfície a partir da massa de um líquido, existem três pistas diferentes que podem ser detectadas: (i) mudanças nas propriedades físico-químicas, (ii) fixação de apêndices celulares e (iii) fixação do corpo celular (Armbruster CR et al., 2019).

Quando as bactérias se aproximam de uma superfície, os apêndices das células grudam nela. A adesão é suportada por flagelos, que devido à sua natureza hidrofóbica aderem particularmente a superfícies hidrofóbicas. Não apenas a presença de flagelos, mas também a capacidade de os girar é importante para a adesão, uma vez que mutantes de *E. coli* com flagelos não funcionais são

prejudicados na formação de biofilme e se destacam mais prontamente em comparação com o tipo selvagem. Em contraste, a posse de flagelos reduziu a adesão em *Caulobacter crescentus*, indicando a complexidade do processo de adesão (BELAS, 2014).

Além dos flagelos, também os pilus (fímbrias) se fixam nas superfícies e apoiam o desenvolvimento do biofilme. Sua importância é ilustrada por um estudo de todo o genoma em *E. coli*, que revelou que a perda de genes que codificam os pilus do tipo I teve o efeito mais prejudicial de todas as deleções de um único gene na formação de biofilmes. A importância dos pilus do tipo I para a adesão também é ilustrada pela descoberta de que o apego a uma variedade de superfícies abióticas pode ser bastante reduzido pela adição de manose ao substrato. A adesão diminuída é provavelmente devido a uma interação reduzida da manose-pilus saturados com a superfície (BELAS, 2014).

Os vírus entéricos, particularmente os Norovírus Humanos (NoV) e o Vírus da Hepatite A (HAV), são os principais patógenos de origem alimentar. A fixação desses patógenos a alimentos e superfícies de contato com alimentos é um mecanismo importante no processo de contaminação humana. Estudos foram feitos para investigar a natureza das forças físico-químicas, como as hidrofóbicas e eletrostáticas, envolvidas na interação vírus/matriz, mas, até o momento, poucos dados estão disponíveis sobre as propriedades de superfície dos vírus e previsão da capacidade de adesão de um vírus específico em matrizes ainda é muito difícil. O objetivo deste estudo foi propor um sistema de referência, incluindo um substituto do vírus representativo, capaz de prever o mais próximo possível o comportamento dos vírus patogênicos em termos de adesão em superfícies inertes (aço inoxidável e polipropileno) e alimentos (folhas de alface, morangos e framboesas) (Deboosere N et al., 2012).

Para limpeza de instrumentos, uma solução detergente de pH neutro ou quase neutro é comumente usada porque tais substâncias geralmente fornecem o melhor perfil de compatibilidade de material e boa remoção de contaminantes. Enzimas, geralmente proteases, às vezes são adicionadas a soluções de pH neutro para auxiliar na remoção de material orgânico. As enzimas nessas formulações atacam as proteínas que constituem uma grande parte do contaminante comum (por exemplo, sangue, pus). As soluções de limpeza também podem conter lipases (enzimas ativas nas gorduras) e amilases (enzimas ativas nos amidos). Os limpadores enzimáticos

não são desinfetantes e as enzimas proteicas podem ser inativadas por germicidas (Pires CW et al., 2017).

Tal como acontece com todos os produtos químicos, as enzimas devem ser removidas do equipamento via enxague, ou podem provocar transtornos indesejáveis, como por exemplo reação alérgica ao paciente e profissional de saúde, degradação da superfície higienizada, etc.. As soluções enzimáticas devem ser usadas de acordo com as instruções do fabricante, que incluem diluição adequada do detergente enzimático e contato com o equipamento pelo período especificado no rótulo. Enzimas detergentes podem resultar em asma ou outros efeitos alérgicos nos usuários. Soluções detergentes de pH neutro que contêm enzimas são compatíveis com metais e outros materiais usados em instrumentos médicos, e são a melhor escolha para higienizar esses equipamentos (Pires CW et al., 2017).

Os agentes de limpeza de base alcalina são usados para o processamento de dispositivos médicos porque dissolvem com eficiência proteínas e resíduos de gordura, no entanto, eles podem ser corrosivos. Alguns dados demonstram que os detergentes enzimáticos são mais eficazes do que os detergentes neutros na remoção de microrganismos das superfícies, mas dois estudos mais recentes não encontraram nenhuma diferença na eficiência de limpeza entre os limpadores enzimáticos e os de base alcalina (Centurión MPB et al., 2019).

Há um interesse crescente no papel da limpeza para o gerenciamento de infecção relacionada à assistência à saúde (IRAS) adquiridas em hospitais. Patógenos como Enterococos Resistentes à Vancomicina (VRE), *Staphylococcus aureus* resistente à Meticilina (MRSA), bacilos Gram-negativos multirresistentes, norovírus e *Clostridium difficile* podem persistir em uma sala de cirurgia por dias (Dancer SJ, 2014).

A limpeza com detergente e desinfetante pode ajudar a controlar esses patógenos, embora as dificuldades com a verificação da limpeza tenham comprometido a qualidade das evidências publicadas. Os métodos de limpeza tradicionais são notoriamente ineficazes para a descontaminação completa ou esterilização, e novas abordagens foram propostas, incluindo desinfetantes, vapor, sistemas de dispersão automatizados e superfícies antimicrobianas (Dancer SJ, 2014).

Os detergentes usados na desinfecção de material hospitalar devem ser biodegradáveis, não abrasivos, não tóxicos e com diluição de uso orientada pelo

fabricante, eficaz na remoção de resíduos orgânicos e inorgânicos, ter baixa formação de espuma e bom enxague. É amplamente recomendado que o detergente utilizado na limpeza de materiais de aço inox tenha ação enzimática. No Brasil este produto é regulamentado por Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 55, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, n. 55, 2015). Define-se detergentes enzimáticos como produtos cuja formulação contém, além do surfactante, pelo menos uma enzima hidrolítica na subclasse de protease extracelular (EC), cujo objetivo é remover a sujeira clínica e prevenir a formação de compostos insolúveis na superfície dos utensílios utilizados em ambiente clínico (Oliveira AC, Mati ML, 2017).

A limpeza é a remoção de toda sujidade de qualquer superfície ou ambiente (piso, paredes, teto, mobiliários e equipamentos). O processo deve ser realizado com água, detergente e ação mecânica manual. Deve preceder os processos de desinfecção (inativação de microrganismos não esporos) e esterilização (inativação de todos os microrganismos sem exceção) (Boyce JM, 2016).

Novos produtos que estão atualmente disponíveis ou em desenvolvimento incluem desinfetantes líquidos de peróxido de hidrogênio aprimorados, combinação de ácido peracético e peróxido de hidrogênio, água eletrolisada, plasma frio à pressão atmosférica e guanidina polimérica. Vários desinfetantes de peróxido de hidrogênio aprimorados têm se mostrado agentes de limpeza/desinfetantes de uma etapa eficazes que reduzem significativamente os níveis bacterianos nas superfícies (Boyce JM, 2016).

A mistura de hipoclorito de sódio com desinfetantes que não sejam água pode ser perigosa. Usá-lo com peróxido de hidrogênio em um espaço fechado pode levar a explosões devido a liberação de oxigênio. Misturá-lo com agentes ácidos pode resultar na formação de gás cloro, o que pode levar à asfixia (Yoo jh, 2018).

O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) não elimina os esporos de forma eficaz em uma concentração baixa (<2%) (desinfetante de baixo nível), mas atua como um desinfetante de alto nível sendo utilizado em uma concentração elevada (7,5-30 %) (Rutala WA, Weber DJ, 2015).

O ácido peracético também é eficaz na remoção de substâncias orgânicas, quebrando as proteínas. Em outras palavras, pode decompor biofilmes. Mesmo em baixas temperaturas, pode inativar os endosporos. Ele pode corroer metais, então o desinfetante de ácido peracético inclui uma mistura de hidrogênio, isopropanol e agentes anticorrosivos (Wallace CA, 2016).

O etanol é usado como um anti-séptico na concentração de 60-80%. A razão pela qual não pode ser usado em concentração de 80% ou mais, é porque a coagulação da parede celular bacteriana é excessiva e o desinfetante não pode entrar na célula. Devido à sua capacidade de evaporar a água, uma solução de álcool a 100% é prejudicial à pele. Portanto, o etanol é fornecido principalmente na forma de gel para hidratação e proteção das mãos. A razão para sua forma de gel é para prolongar o tempo de contato dos microrganismos com o álcool, diminuindo a evaporação para aumentar ainda mais o efeito de inativação. Na concentração de 70%, o etanol tem atividade microbicida mais expressiva (Yoo JH, 2018).

Quando o etanol a 70% entra em contato com um organismo unicelular, faz a proteína coagular, mas isso ocorre em um ritmo lento. Na verdade, isso permite que o etanol permeie em toda a célula antes que tenha a chance de sua coagulação bloqueá-la. A célula inteira é então coagulada, causando assim a sua inativação (Graziano MU et al., 2013).

O etanol tem a ação antimicrobiana devido a sua capacidade de desnaturar as proteínas em geral, também apresenta efeito bacteriostático em função da inibição da produção de metabólitos que são essenciais para a reprodução dos microrganismos (Parikh ., 2021).

As soluções de etanol a 70% apresentam capacidade maior de permear na parede celular, o que atinge toda a célula, coagula todas as proteínas e, portanto, deixar o microrganismo inativado. O conteúdo extra de água retarda a evaporação, aumentando assim o tempo de contato da superfície e melhorando a eficácia (Yoo JH, 2018).

Existem algumas maneiras pelas quais o álcool pode eliminar bactérias e vírus, a mais importante delas é desnaturar as proteínas. Outros modos de ação incluem ter um efeito direto sobre o RNA do organismo, inativando a célula por meio do rompimento de sua membrana plasmática, causando a lise celular e interferindo no metabolismo da célula (Graziano MU et al., 2013).

O gluconato de clorexidina é um antisséptico químico, com ação antifúngica e bactericida, capaz de eliminar tanto bactérias gram-positivas quanto gram-negativas. Possui também ação bacteriostática, inibindo a proliferação bacteriana (Wallace CA, 2016).

Os compostos de amônio quaternário têm uma estrutura quimicamente estável carregada positivamente. Eles se ligam à parede celular ou membrana das bactérias

e causam rompimento e conseqüentemente extravasamento das organelas internas das células, interrompendo assim o potencial de membrana e o gradiente de pH da célula. Também atuam como um detergente catiônico. Um exemplo representativo é o cloreto de benzalcônio, não apresenta capacidade de inativar endosporos, *Mycobacterium* e vírus não envelopados (por exemplo, norovírus). Eles são usados para desinfecção de itens não críticos. No caso do norovírus, é bom usar peróxido de hidrogênio acelerado ou desinfetantes que contenha cloro (Rutala WA, Weber DJ, 2015).

Quando o glutaraldeído reage com a água, um grupo hidroxila (-OH) se liga a ela, formando assim um hidrato. Se o ambiente circundante se tornar alcalino, ele pode liberar hidrogênio a qualquer momento. Em outras palavras, quando essa solução é alcalinizada, se torna um ácido forte. Assim, atua como um desinfetante de alto nível e um produto químico esporicida (esterilizante químico) devido à sua capacidade de eliminar os endósporos, contudo apresenta desvantagens como toxicidade, necessidade de controle no armazenamento, exigência de rastreabilidade, contaminação do meio ambiente no descarte incorreto, custo elevado, necessidade de uso de EPI, entre outros (Yoo jh, 2018).

Considerando as desvantagens do uso de produtos químicos para desinfecção, estes representam um potencial para danos aos olhos e pele, irritação respiratória, odor forte, dermatite, mancha na pele, problema na mucosa, asma, demandando assim o uso de EPI, essas substâncias podem causar contaminação de solo e recursos hídricos por descarte inadequado, vazamento, liberação de vapores, por armazenamento incorreto, entre outros (Boyce JM, 2016).

## **Ozônio**

O ozônio (O<sub>3</sub>) é um gás altamente reativo composto por três átomos de oxigênio. É uma substância natural e presente na atmosfera da Terra (estratosfera) e baixa atmosfera (a troposfera). O ozônio presente na estratosfera é formado naturalmente pela interação da radiação Ultravioleta solar (UV) com as moléculas de oxigênio presentes. A camada de ozônio, aproximadamente 9 a 40 km acima da

superfície do planeta, bloqueia a radiação ultravioleta proveniente do sol, atuando como um filtro, protegendo os seres vivos presentes na superfície do nosso mundo (Hyun Jet al., 2017).

O ozônio presente no ambiente da superfície do solo terrestre, é formado principalmente por reações fotoquímicas entre duas classes principais de poluentes atmosféricos, Compostos Orgânicos Voláteis (VOC) e Óxidos de Nitrogênio (NOx). Essas reações têm sido tradicionalmente vistas como dependentes da presença de calor e luz solar, resultando em maiores concentrações de ozônio no ambiente durante os meses de verão (Park JS et al., 2016).

Embora algum ozônio estratosférico seja transportado para a troposfera e alguns VOC e NOx podem ser gerados naturalmente, a maior parte do ozônio do nível do solo é o resultado de reações de VOC e NOx produzidos pelo homem. Fontes significativas de VOC são provenientes de fábricas de produtos químicos, bombas de gasolina, tintas à base de óleo, oficinas automotivas e gráficas. Os óxidos de nitrogênio são formados principalmente da combustão em alta temperatura. Fontes significativas são usinas de energia, fornos, caldeiras industriais e veículos motorizados (Rutala WA, Weber DJ, 2015).

Em relação ao oxigênio (O<sub>2</sub>), o ozônio apresenta efeito de oxidação mais intenso, ele é um gás incolor de odor pungente, instável e parcialmente solúvel em água, que se destaca por seu elevado poder oxidante. É um forte agente desinfetante com ação sobre uma grande variedade de microrganismos patogênicos, incluindo bactérias, vírus e protozoários, apresentando uma eficiência germicida que supera ao cloro (Singh M et al., 2019).

O ozônio é, portanto, um agente oxidante mais poderoso do que o oxigênio, o que significa que pode reagir quimicamente com várias substâncias, é estabelecido como uma molécula formada por três átomos de oxigênio, sendo que um deles apresenta uma ligação mais fraca, daí a sua instabilidade resultando em oxidação. O ozônio é usado industrialmente como alvejante e desinfetante devido à sua elevada capacidade de oxidação (Hyun Jet al., 2017).

O ozônio é um composto fortemente oxidante que oxida rapidamente materiais orgânicos, ferro, manganês e outras substâncias quando adicionado à água potável. Além disso, é um desinfetante extremamente eficaz contra bactérias e vírus. O ozônio inativa as bactérias cerca de 3.200 vezes mais rápido do que o cloro (Rutala WA, Weber DJ, 2015).

O ozônio é um poderoso agente antimicrobiano devido à sua capacidade potencial oxidante, e é ativo contra bactérias, fungos, vírus, protozoários e esporos bacterianos. O ozônio produz a inativação de microrganismos por oxidação progressiva de componentes celulares vitais. As reações de oxidação são causadas por ozônio molecular dissolvido ou espécies de radicais livres formadas durante a auto decomposição. A molécula de ozônio por ser instável, libera um íon reativo, que poderá reagir quimicamente a alguma substância pertencente a membrana do microrganismo, (Park JS et al., 2016), e com desdobramento de causar lacunas (danos) na parede celular do microrganismo.

É possível sintetizar o gás ozônio, seguindo exatamente o modelo natural envolvendo a radiação ultravioleta, na verdade trata-se de escoar gás oxigênio entre dois eletrodos metálicos, submetidos a um elevado potencial elétrico em KiloVolts (KV), as descargas elétricas produzidas, geram a emissão de luz ultravioleta (~260 nanômetros), e com o fluxo de oxigênio atuando neste meio, há a produção de moléculas ozônio, a concentração (mg/L) de O<sub>3</sub> na saída irá depender de alguns parâmetros da montagem deste sistema, entre eles pode-se mencionar a área de superfície entre os eletrodos, a tensão elétrica utilizada, etc. (Bocci V, 2014).

A água ozonizada recente pode ser uma solução eficaz para atuar em biofilmes bacterianos. No caso de biofilmes formados por cepas de *Staphylococcus aureus*, a água ozonizada reduziu a contagem de células viáveis para níveis de baixa população após exposições breves (30 segundos) (BialoszewskiD et al., 2011).

A água potável proveniente de abastecimento público ozonizada (4ppm) possui ação microbida eficaz contra *Escherichia coli* (*E. coli*), e pode ser uma alternativa em termos de substituir os desinfetantes tradicionais à base de álcool, ou outros agentes químicos nas instituições de saúde. A água ozonizada pode ser especialmente valiosa para pessoas com problemas de pele (Braidablik HJet al., 2019).

O gás ozônio pode ser parcialmente transferido em água utilizando difusores porosos, produzindo por injeção bolhas de gases de tamanho pequeno, melhorando de maneira significativa sua transferência para a água, isto ocorre de modo semelhante ao que é comumente usado no fundo de um aquário com peixes para a aeração. Este é um método simples e econômico para transferir o gás ozônio no líquido. Como o ozônio é parcialmente solúvel, ele se transferirá para o líquido imediatamente na interface entre a superfície da bolha do gás ozônio e a água



circundante (Hyun Jet al., 2017).

Os injetores Venturi atuam forçando a água através de um corpo cônico que inicia um diferencial de pressão entre as vias de entrada e saída. Isso cria uma pressão menor dentro do corpo do injetor, que inicia o arrasto do ozônio através da terceira via de acesso. Este processo é mais eficaz que difusor de bolhas, pois apresenta taxa de transferência de massa de ozônio elevada (até 98% se pressurizado, 50-70% sem pressão e sem peças móveis, mas requer bomba de água para realizar o escoamento forçado (Park JS et al., 2016) (Carvalho et al, 2015).

A ozonização da água depende de vários fatores, incluindo a cinética de diluição do ozônio ao meio aquoso, o teor de matéria orgânica da água, a temperatura e o pH do meio. Quando há uma variação significativa no pH do meio, as mudanças na eficiência durante o processo de desinfecção estão relacionadas às mudanças na taxa de decomposição do ozônio (Ferreira WFS et al., 2017).

Nos últimos anos a utilização do ozônio tem se intensificado por ser um desinfetante de amplo espectro com capacidade de inativar uma vasta gama de microrganismos que podem ser resistentes a outros desinfetantes” (Martinelli M. *et al.*, 2017, p. 49).

Alguns estudos sobre bactérias sugerem que o ozônio altera proteínas e ligações insaturadas de ácidos graxos na membrana celular, levando a ruptura desta estrutura. O ozônio pode interromper a atividade enzimática celular reagindo com grupos tiol e modificar as bases purinas e pirimidinas em ácidos nucleicos. O ozônio é igualmente eficaz na destruição de ambos os vírus envelopados e não envelopados, produzindo danos em seu revestimento e na cápside. O ozônio pode constituir um sistema antimicrobiano alternativo eficaz, uma vez que é capaz de penetrar em todas as irregularidades superficiais e é aplicável a um amplo espectro microbicida. Face ao exposto, objetivou-se nesta pesquisa avaliar a viabilidade técnica da aplicação de ozônio como microbicida em amostras de RSS potencialmente infectantes (Chayb EF. Kozusny-Andreani DI, 2015).

O objetivo da desinfecção do abastecimento público de água é a inativação dos patógenos responsáveis pelas doenças de veiculação hídrica. A transmissão de doenças como febre tifóide, paratifóide, cólera, salmonelose e shigelose pode ser controlada com tratamentos que reduzem substancialmente o número total de microrganismos viáveis na água (Lin H. et. al., 2017).

A cloração é o método mais amplamente usado para desinfetar a água com

objetivo de torná-la potável e consumível. A adoção quase universal desse método pode ser atribuída à sua conveniência e ao seu desempenho altamente satisfatório como desinfetante, que foi estabelecido por décadas de uso. No entanto, a descoberta de que a cloração pode resultar na formação de trihalometanos e outros hidrocarbonetos halogenados, levou ao reexame da metodologia de desinfecção disponível para determinar agentes ou procedimentos alternativos (Li Q et al., 2017).

O tratamento da água potável com ozônio tem se mostrado eficiente contra os esporos do *Bacillus subtilis*. Observou-se que o ozônio já na concentração de 0,35 mg/L produziu a redução de *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenese* e *Staphylococcus aureus*. Para esporos de *Bacillus subtilis*, a redução foi observada com concentrações de ozônio de 0,35 e 0,70 mg/l (Zhang Y et al., 2017).

Água ozonizada recém produzida pode ser uma solução eficaz para a inativação de microrganismos. No caso de biofilmes formados por cepas de *Staphylococcus aureus*, a água ozonizada reduziu a contagem de células viáveis de maneira expressiva após exposições muito breves (30 segundos) (Bialoszewskiet al., 2011).

O ozônio tem uma maior eficácia de desinfecção contra bactérias e vírus em comparação com a cloração. Além disso, as propriedades oxidantes também podem reduzir a concentração de ferro, manganês, enxofre e reduzir ou eliminar problemas de sabor e odor. O ozônio oxida o ferro, o manganês e o enxofre da água para formar óxidos de metal insolúveis ou enxofre elementar. Essas partículas insolúveis são então removidas por pós-filtração. Partículas orgânicas e produtos químicos são eliminados por coagulação ou oxidação química. O ozônio é instável e se degradará em um intervalo de tempo que varia de alguns segundos a 30 minutos. A taxa de degradação é função das condições do meio que são basicamente a pressão e temperatura. (Emily L et al., 2020).

Os custos associados à produção de ozônio caíram 50% na última década e, portanto, muitas novas aplicações industriais surgiram nos últimos anos. Existem mercados potenciais para a tecnologia de ozônio, especialmente no tratamento de água, esterilização de superfície, branqueamento de polpa de madeira, processamento de materiais, tratamento de águas residuais têxteis e processamento da água de resfriamento em âmbito industrial. Um aspecto importante da aplicação do

ozônio ( $O_3$ ) no tratamento de água, é seu uso como desinfetante em um sistema de circuito hidráulico dinâmico, utilizando bomba e válvula Venturi, a fim de tratar a água para as indústrias farmacêutica e eletrônica. Além disso, vale ressaltar que a utilização de ozônio, substituindo o cloro, não deixa resíduos nocivos como haloformas após a reação (Silva, LM, Jardim WF, 2006).

Um parâmetro importante a se considerar é a especificação da dosagem de ozônio a ser utilizado, em primeira etapa deve-se conhecer a concentração de  $O_3$  na saída a partir do gerador, esse parâmetro normalmente é mensurado através de uma instrumentação óptica no sentido de avaliar a absorção do ozônio sob a incidência do feixe de luz Ultra Violeta (Leeuwen J van, 2015).

Uma maneira de especificar a dosagem de ozônio aplicada a um sistema, é de multiplicar a concentração de  $O_3$  na saída do gerador, com a vazão de gás oxigênio acoplado na entrada do mesmo, assim haverá um parâmetro denominado como taxa de alimentação de ozônio com a unidade mg/min (miligramas de ozônio por minuto). Quando se multiplica pelo tempo de atuação em minutos e posteriormente divide-se pelo volume ou área da amostra, chega-se ao parâmetro dosagem de ozônio aplicada (mg/L miligramas por litro, ou mg/cm<sup>2</sup> miligramas por cm<sup>2</sup>) (Leeuwen J van, 2015).

Como o ozônio é significativamente mais eficaz do que o cloro na inativação e/ou eliminação de vírus, bactérias e cistos (por exemplo, *Cryptosporidium* e *Giardia*), é amplamente usado na Europa por muitos anos para tornar a água potável e ser utilizado para o abastecimento público, porém seu uso expressivo não ocorreu de maneira similar nos Estados Unidos. As razões incluem seu custo mais elevado e o fato de não permanecer muito tempo na água. As autoridades reguladoras dos Estados Unidos especificaram desinfetantes menos custosos, como cloro livre, dióxido de cloro ou cloraminas, para manter um resíduo capaz de continuar inativando organismos em todo o sistema de distribuição (Meunier L. et al., 2006).

Na busca constante por novas substâncias antimicrobianas, estudos recentes com o ozônio têm rendido grandes benefícios. Estudo avaliou os efeitos da água ozonizada para desinfecção comparando sua eficácia com a técnica convencional (glutaraldeído 2%). De acordo com os resultados obtidos, quando foi utilizada água ozonizada (330 mg.min. L<sup>-1</sup>), produziu uma redução de 2 log dos microrganismos viáveis nas condições testadas. Água ozonizada foi um potente desinfetante, na desinfecção de endoscópios, sugerindo ser uma alternativa viável para desinfecção (Marson RF et al., 2016).

Testes qualitativos de análise microbiológica são aplicados para identificar microrganismos remanescentes, depois de um processo de desinfecção e considerando a água ozonizada e glutaraldeído, verificou-se maior inativação de bactérias com o uso da água ozonizada, envolvendo *Echerichia coli*, *Enterobacter sp* *Staphylococcus coagulase* positiva e negativa. Na análise quantitativa, para verificar a eficiência da descontaminação, adota-se o número de Unidades Formadoras de Colônia para cada mililitro (CFU/mL) considerado depois da aplicação dos detergentes (Marson RF et al., 2016).

O processo de quantificar a cultura microbiana (método de contagem de colônias) é a técnica tradicional e mais comum para avaliar a limpeza e o efeito da desinfecção. No entanto, é demorado pois demanda tempo de 24 a 48h no mínimo para avaliação. Recentemente, a maioria das instituições médicas, organizações de supervisão de saúde começaram a usar o método de bioluminescência, para validar a desinfecção de superfícies. Devido à sua simplicidade e rapidez, este método apresenta a vantagem de rapidamente permitir a avaliação microbiológica quantitativa do local, resultando na demonstração se a superfície esta ou não adequadamente desinfectada, permitindo a monitorização e a limpeza do ambiente de acordo com as necessidades e em tempo real (Liu X et al., 2019).

O método de bioluminescência permite detectar o conteúdo de ATP( Adenosina Trifosfato “Adenosine TriPhosphate”) em uma amostra por monitoramento, a reação de luminescência biológica com a interação do reagente luciferase, e com a instrumentação de um luminômetro para detectar a presença de material orgânico (ATP), o qual um percentual deste material representa a presença de microrganismos (Liu X et al., 2019).

Três tipos de instrumentos de bioluminescência para a mensuração da quantidade de ATP estão disponíveis no mercado, são da marca Hygiena, Britain e Precision. Para a funcionalidade de cada um desses instrumentos, utiliza sonda “swab” estéril, que fica contida dentro de um invólucro selado, e contém também uma substância específica reagente em câmara separada no mesmo recipiente, quando é realizado o esfregaço na superfície pela sonda, e posteriormente quando em contato com o reagente (luciferase), ocorre uma reação química produzindo a bioluminescência, nesse sentido quando a sonda é inserida no instrumento, a luz é produzida pelo efeito fotoquímico, um sensor optoeletrônico intrínseco ao instrumento permitirá a mensuração dessa intensidade de luz que é diretamente proporcional

com a quantidade de material orgânico coletado (ATP). Cada sonda "swab" no recipiente contém substância reagente específica em câmara selada separada, para cada classe de microrganismos compatíveis, a fim de potencializar a bioluminescência. O protocolo de uso do instrumento demanda que as amostras "swab", devem ser agitadas 20 vezes para misturar a sonda com os reagentes após a amostragem e, em seguida, é feita a análise pelo detector óptico e sistema eletrônico atrelado, permitindo medir o valor quantitativo por bioluminescência em Unidades Relativas de Luz (URL). Os resultados são relatados como conteúdo de ATP (mol) por área de superfície (Liu X *et al.*, 2019).

O manual de instrução do equipamento de luminescência orgânica Hygiena determina valores na escala Unidade Relativa de Luz (URL), no sentido de estabelecer a qualidade de limpeza do local. Assim sendo, a medida indicada com valor abaixo de 100 URL, estabelece superfície adequadamente desinfetada. Já entre para valores acima desse limite determina como superfície não adequadamente higienizada, especificamente em se considerando pisos em geral o limite de escala permissível é ajustado para 300 URL (Liu X *et al.*, 2019).

A bioluminescência pela detecção de ATP parece fornecer perspectivas interessantes, de fato, essa técnica apresenta a vantagem de obter uma rápida amostragem de análise do grau de desinfecção local. Uma limitação provisória a se considerar, é de que ainda entre os fabricantes e os estudos científicos relacionados a técnica de bioluminescência, ainda não apresenta os valores de escala em URL limites de maneira padronizada, no sentido de diferenciar uma superfície desinfetada ou não. Para o fabricante Hygiena o valor limite é especificado para 100 URL. Outros fabricantes e estudos científicos especificam valores diferenciados e acima do anterior apresentado, neste sentido há relato de que a instrumentação optoeletrônica de cada instrumento pertinente ao fabricante, apresenta especificações técnicas diferentes, resultando diferença de calibração para diferentes fabricantes (Nante N *et al.*, 2017).

Em estudo, para a detecção de ATP por bioluminescência, foi utilizado um luminômetro portátil (Clean-Trace ATP System; 3M™) e Kit Clean Trace – com sonda "swab" específica. Conforme recomendação do fabricante e literatura, a sonda contendo algodão estéril foi posicionada contra a superfície teste (100 cm<sup>2</sup>), formando tensão mecânica até a haste realizar uma discreta curvatura, formando assim um ângulo de aproximadamente 30°, realizando posteriormente movimento de trajetória no formato "zigzag" e giro da haste, atuando nas direções horizontal e oblíqua.

Esse método permite a coleta de material orgânico, em que parte dele contém os microrganismos, na sequência com a ação do material reagente e inserção desta sonda no equipamento, o mesmo disponibiliza a medida em URL pertinente a informação quantitativa em termos de especificar o grau de desinfecção (Frota OPet al., 2017).

Por meio de um “swab” próprio estéril, a matéria orgânica presente na superfície é coletada, posteriormente essa sonda é transferida para um invólucro contendo um complexo enzima-substrato (luciferina-luciferase), a qual irá reagir quimicamente com o material orgânico coletado, produzindo assim o efeito da bioluminescência, após é claro ter realizado a inserção desse invólucro no equipamento. A reação formada pelo contato da amostra orgânica com esse complexo produz luz por efeito fotobioquímico, cuja intensidade é mensurada por um sistema optoeletrônico portátil e expressada em URL. A quantidade de URL é diretamente proporcional à quantidade de ATP, que, por sua vez, é proporcional também a quantidade da matéria orgânica coletada. As superfícies foram consideradas limpas quando o índice de ATP colhidos de uma área de 100 cm<sup>2</sup> proveniente da superfície atingiram valor inexpressível (Frota OPet et al., 2017).

O equipamento da marca “Hygiena” permite realizar a análise quantitativa de desinfecção do local a ser analisado, de fato, com o uso de uma sonda “swab” específica para esse sistema, e com a atuação de um reagente químico nesta sonda, há a produção de bioluminescência de intensidade diretamente proporcional com a população microbiana sondada no local (HYGIENA, 20214).

Seguindo a especificação conforme descrito no manual do equipamento HYGIENA, bem como também de outros sistemas similares também disponíveis no mercado, a área da superfície a ser analisada deve apresentar valor de 100cm<sup>2</sup>, obedecendo especificamente uma geometria quadrada (HYGIENA 2014, Amódio 2013). Todos os instrumentos de avaliação de higienização de superfície, utilizando a técnica da bioluminescência, atuam com seu sistema optoeletrônico na coleta de luz operando numa banda espectral óptica de 490nm (Shah e Naseby 2015).

Diversos trabalhos relatados na bibliografia técnico/científica, ressaltam a importância de tornar e manter superfícies de ambientes clínicos/hospitalares devidamente higienizadas, no sentido de minimizar efeitos de infecção hospitalar. De fato, em condição ainda não validada, um padrão microbiológico em termos quantitativos, para garantir um ambiente hospitalar seguro contra infecção, tem sido

proposto um padrão de 3 Unidades Formadoras de Colônia por centímetro quadrado (UFC/cm<sup>2</sup>) (Mulvey, 2011) (Lewis, 2008) (Boyce, 2009).

Em se tratando da higienização de superfícies de ambientes clínico/hospitalar, o protocolo adequado envolve a utilização de duas etapas, a primeira como limpeza é notabilizada pelo uso de detergente juntamente com pano absorvedor, a segunda fase denominada desinfecção terminal, é caracterizada pela utilização de um agente desinfectante normalmente com o uso de substância química específica (Casini, 2018). O uso de um agente com propriedade desinfectante e concomitantemente microbicida para a desinfecção de superfícies, mas que também apresente vantagens de ser atóxico em termos de compatibilidade ao contato humano e descarte ao meio ambiente, apresentaria um avanço em termos de controle de limpeza e desinfecção de ambientes clínico/cirúrgico.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

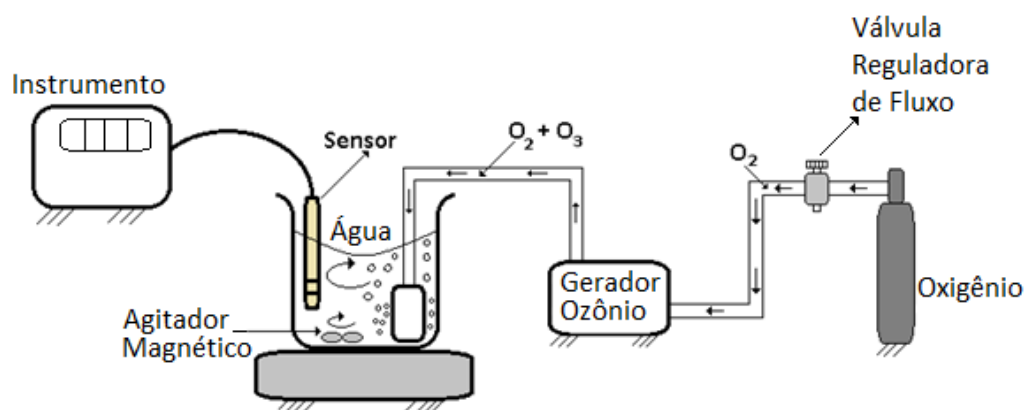
Verificar o desempenho da desinfecção de um porta instrumental cirúrgico de aço inoxidável após procedimento de cirurgia cesariana, utilizando água ozonizada, e como instrumentação usar a técnica da bioluminescência.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Verificar o desempenho de desinfecção do álcool 70% em porta instrumental metálico, pertencente ao setor cirúrgico de um hospital, utilizando a técnica de bioluminescência.
- b) Avaliar quais das duas metodologias, álcool ou água ozonizada, apresentou melhor desempenho de desinfecção.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O preparo da água ozonizada foi realizado usando de gerador de ozônio (Ozon Life, modelo MS3G, Anexo A), dentro de uma cabine com fluxo de exaustão para o ambiente externo, foi utilizado 500 ml de água destilada colocada em recipiente de vidro resistente ao calor, adicionando cubos de gelo feito com a mesma água destilada mantendo a temperatura baixa. O gerador de ozônio foi ajustado na concentração de 44mg/L, atuando com uma vazão de oxigênio a  $\frac{1}{4}$  L/min., usando método de geração de bolhas em miniatura com a peça metálica (aço inoxidável) sinterizada (porosa) acoplada ao gerador de ozônio, atuando na ozonização da água por 20 minutos. O ambiente do laboratório foi climatizado mantendo a temperatura a 20°C. Durante o processo de ozonização da água, foi mantido imerso um sensor que acoplado a um equipamento eletrônico, permitindo a mensuração da concentração de ozônio na água, para isso, foi necessário manter o fluido numa situação dinâmica em redemoinho, Figura 1.



**Figura 1.** Representação esquemática do protocolo de ozonização da água (destilada), o procedimento foi realizado utilizando difusor para a produção de microbolhas de ozônio/oxigênio. Simultaneamente foram realizados os processos de medida da concentração de ozônio na água, bem como também a manutenção da baixa temperatura, esse procedimento foi realizado em triplicata.

Após o procedimento de ozonização da água, ela foi transferida para um recipiente de vidro com tampa, nesta há uma adaptação a fim de permitir ejeção da água por pulverização (“spray”). O reservatório de vidro conteve uma embalagem



externa específica com blindagem térmica, a fim de manter baixa a temperatura da água ozonizada.

Figura 2. Na tampa do recipiente foi adaptado um dispositivo para permitir a pulverização da água.



**Figura 2.** Fotografia do recipiente com água ozonizada, utilizado para o experimento de desinfecção no porta instrumental cirúrgico, esse pote de vidro também ficou envolvido com uma proteção de isopor a fim de manter a temperatura baixa da água ozonizada.

A análise para a desinfecção de superfície foi realizada utilizando a sonda (“swab”) especial, executando o esfregão na superfície contendo uma área de 100cm<sup>2</sup>, esta peça sonda é compatível num equipamento que indicará por bioluminescência um número especificado como URL(Unidade Relativa de Luz), este valor apresentado pelo instrumento, mostrará um número que é diretamente proporcional com a quantidade de ATP, material em que parte deste é proveniente da composição dos microrganismos presentes, seguindo a indicação do fabricante do instrumento e demais estudos realizados, um local para ser considerado devidamente higienizado não deverá ultrapassar o valor de 100 URL (Manual Higiene; Nante et al 2017; Mulvey et al 2011) .

Foi definido um local específico sendo o utensílio móvel metálico de aço inoxidável, utilizado como porta instrumental cirúrgico após o procedimento cirúrgico de cesariana, com vistas a realizar a medida do grau de material orgânico antes do processo de higienização. Para isso, foi utilizado um papel de grau cirúrgico sob condição estéril (“altoclavado”), esse utensílio foi usado como “máscara” contendo

duas aberturas quadradas adjacentes, sendo que cada uma apresentou as dimensões de (10x10) cm (100cm<sup>2</sup>), no primeiro espaço foi realizado a avaliação do nível de deposição de ATP na superfície, utilizando o instrumento Hygiena, compatível com a sua devida sonda específica. Em seguida na segunda área adjacente foi realizado o procedimento de limpeza com detergente enzimático (Rioquímica), através do uso de spray cobrindo toda a área formando uma película líquida homogênea, na sequência essa superfície foi seca usando gaze estéril, como segunda etapa de desinfecção terminal foi realizada a pulverização de água ozonizada, repetindo o mesmo procedimento citado anteriormente, em termos de formação de película líquida da água, no intuito de saber o quanto de ozônio foi transferido à superfície de 100 cm<sup>2</sup>, o vasilhame com água ozonizada foi pesado antes e depois do procedimento de pulverização, na sequência foi realizado o esfregaço com o mesmo tipo de sonda “swab” específica sobre essa superfície, e inserida dentro do equipamento Hygiena para a medida do grau de desinfecção em URL. Com essas mensurações quantitativas antes do uso do detergente, e depois da desinfecção final com água ozonizada, foi possível verificar o grau percentual de diminuição em termos da escala URL. O mesmo procedimento similar ao citado anteriormente utilizando detergente e água ozonizada, foi realizado também como referência de higienização, com o uso do detergente e álcool 70%.

Para fins de análise estatística considerando cada protocolo de desinfecção terminal envolvendo água ozonizada ou álcool 70%, foram realizados 20 experimentos considerando cada produto já mencionado, para isso, no intuito de verificar maior desempenho de higienização entre a água ozonizada e o álcool 70%, para realizar o cálculo foi adotado o software G\*Power versão 3.1 Faul F., Germany, considerando um grau de significância de 0,05 (95%), com efeito lateral ( $\rho$ ) de 0,61. A análise estatística foi realizada utilizando o software InStat versão 3.05 Graph-pad Software, San Diego, CA, USA). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov,  $p < 0,1$ . Os valores em URL obtidos mostraram uma distribuição não normal, levando a utilização do teste Mann-Whitney U, já considerando a redução percentual com o cálculo relativo dos valores antes e depois em URL de cada teste, esses dados mostraram uma distribuição normal, indicando o uso do teste t não pareado, considerando o grau de significância de 0,05 e intervalo de confiança de 95% na comparação entre os grupos.

O modelo de sonda “swab” utilizado foi o Ultrasnap, o qual é compatível com

o equipamento luminômetro marca Hygiena modelo Ensure Plus.

Cada sonda “swab” conforme o fabricante já vem introduzida dentro de um recipiente tubular de plástico selado, este invólucro apresenta duas câmaras separadas com vedação, sendo que o volume onde fica instalado o algodão estéril da sonda, está separado e isolado da outra câmara desse tubo, neste espaço está presente o reagente líquido. Para o procedimento de avaliação de ATP quantitativo, esse tubo é rompido expondo a sonda de algodão estéril para ser realizado o esfregaço sobre a superfície, em seguida essa sonda é recolocada dentro do mesmo tubo selando com sua tampa própria, na sequência é feito o rompimento da membrana que separa as duas câmaras do tubo plástico, em seguida é executado o movimento manual de agitação por 20 vezes de maneira cíclica, a fim de permitir a ação do reagente líquido sobre o algodão estéril contendo o material orgânico coletado, e finalmente esse tubo é introduzido no equipamento a fim de realizar a leitura na escala URL, pertinente ao grau de higienização local. Esse reagente potencializa a produção de luminância que terá intensidade diretamente proporcional com a quantidade de material orgânico coletado, sendo parte dessa coleta protagonizado como ATP proveniente dos microrganismos presentes na superfície sondada.

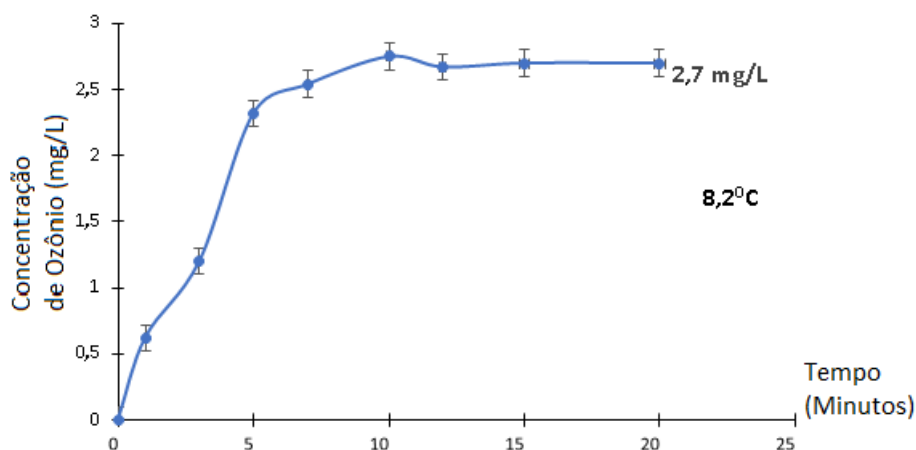
Após a utilização do método de desinfecção com a água ozonizada, para garantir a segurança, todo utensílio metálico de aço inoxidável foi submetido ao protocolo de desinfecção cotidiano da instituição de saúde colaboradora.

Para realizar uma análise microbiológica qualitativa básica, ou seja, na tentativa de identificar algumas espécies de microrganismos, foi utilizada uma sonda de algodão estéril, realizando o esfregaço no local de avaliação da desinfecção, neste sentido, após atritar a sonda microbiana sobre a superfície, a mesma foi colocada dentro de um recipiente fechado, contendo substância líquida específica, para posterior análise laboratorial.

#### **4. RESULTADOS**

O processo de ozonização da água destilada disponibilizou o gráfico conforme a Figura 3 a seguir, como pode ser observado após praticamente 10 minutos, é atingido um patamar de estabilização indicando uma concentração de ozônio em torno de 2,7 mg/L. Um detalhe importante a ser ressaltado, é que com a parada do processo, e após 1 hora em que a água atinge a temperatura ambiente (20°C “climatizado”), o instrumento medidor de concentração de O<sub>3</sub> indicou um valor de 2,2 mg/L, o que

significa uma redução de 18%. Um detalhe importante a ser ressaltado, é que a baixa temperatura da água, permite maior diluição de ozônio no líquido, para isso, foi inserido cubos de gelo também de água proveniente do mesmo destilador, assim, o volume total resultante foi em torno de 700 ml.



**Figura 3.** Curva de ozonização de água destilada com um volume inicial na fase líquida de 500 ml, foi mantida temperatura baixa inserindo cubos de gelo proveniente do mesmo equipamento destilador, neste sentido é mostrado na figura a temperatura medida durante a ozonização.

O volume de água ozonizada pulverizada sobre a área de 100 cm<sup>2</sup>, pertencente ao porta instrumental cirúrgico de aço inoxidável, indicou um valor de 2,5 ml, isso foi obtido através das pesagens do recipiente antes e depois da ação de borrifar. Com isso, considerando a massa de água transferida sendo 2,5 g, e como também a concentração de ozônio registrada foi de 2,7 mg/L, resulta que a quantidade de ozônio em massa depositada sobre a superfície a higienizar de 6,8µg.

A análise quantitativa de ATP utilizando o instrumento Hygiena que atua por bioluminescência, em termos de valores brutos na escala URL, e considerando também que para cada sanitizante (água ozonizada e álcool), verificou-se a contagem em URL antes e depois do processo de limpeza da superfície, resultando em 20 análises de superfícies em termos de redução percentual considerando cada sanitizante, o grupo controle álcool apresentou valor de 86,5±2,3%, enquanto que o protocolo de desinfecção com água ozonizada resultou em 98,1±0,8%, sendo que a análise estatística realizada utilizando o teste t, resultou num grau de significância menor do que 0,05 (p=0,000032), Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores da escala URL das superfícies higienizadas a partir de um porta instrumental para cirurgia de cesariana, as duas primeiras colunas representam as medidas antes e depois de higienização, as colunas com a indicação (%) mostram para cada desinfecção realizada o percentual de eficiência de desinfecção. Detalhe importante a ressaltar, o limite de se considerar superfície clinicamente higienizada, utilizando o instrumento luminômetro marca Hygiena não deve exceder a 100 URL.

Álcool			Água ozonizada		
Antes	Depois	Redução (%)	Antes	Depois	Redução (%)
110	33	70,0	2042	37	98,2
147	45	69,4	715	15	97,9
113	15	86,7	717	10	98,6
1731	98	94,3	1172	21	98,2
2704	54	98,0	517	12	97,7
590	112	81,0	1286	4	99,7
1018	78	92,3	947	3	99,7
806	76	90,6	1368	6	99,6
608	98	83,9	1309	16	98,8
338	81	76,0	1079	8	99,3
243	19	92,2	541	86	84,1
612	8	98,7	1715	19	98,9
674	48	92,9	780	25	96,8
554	37	93,3	769	15	98,0
891	52	94,2	8939	39	99,6
203	3	98,5	663	6	99,1
129	33	74,4	980	8	99,2
339	109	67,8	944	5	99,5
373	65	82,6	1725	2	99,9
211	16	92,4	2733	4	99,9
Álcool:			O <sub>3</sub> :		
86,5±2,3(%)			98,1±0,8(%)		

Nos dados fornecidos acima, considerando o sanitizante álcool, dos 20 testes executados de higienização, 2 ultrapassaram o limite de 100 URL especificado, nesse

grupo ainda apareceram dois testes que atingiram valor muito próximo ao limite. No caso do grupo utilizando água ozonizada, todos os 20 testes realizados não ultrapassaram o valor limite, e nenhum deles atingiram valor muito próximo de 100 URL. Como pode ser observado considerando as faixas de tolerância, o grupo álcool com  $86,5+2,6= 89,1\%$ ; ou seja, neste caso o limite maior do grupo álcool, comparando com  $98,1-0,6=97,5\%$  que é o limite menor do grupo água ozonizada, o que mostra também diferença entre estes grupos.

Todos os 20 valores em URL relacionados ao teste usando o sanitizante água ozonizada, mostrou que cada superfície se apresentou devidamente higienizada, considerando um ambiente clínico, pois nenhum deles ultrapassou o limite de 100URL, sendo que apenas um teste se aproximou desse valor (86).

A Tabela 2 a seguir mostra os valores estatísticos em URL considerando os dados brutos antes e após cada protocolo de desinfecção (álcool/água ozonizada), como pode ser verificado através da comparação, o grupo atrelado ao ozônio apresentou um fator de sujidade antes do procedimento maior em relação ao controle álcool ( $p=0,0005$ ). Nesta mesma tabela consta a informação da comparação entre os dois grupos considerando os valores em URL após o protocolo de desinfecção, neste sentido a média das superfícies em se tratando da água ozonizada apresentou grau de desinfecção maior ( $p=0,0002$ ).

**Tabela 2.** Dados estatísticos dos valores de desinfecção especificados na escala URL, os protocolos abrangem as desinfecções álcool e água ozonizada.

Agente	Bioluminescência (URL)			
	Álcool (antes)	Álcool (depois)	Água Ozonizada (antes)	Água Ozonizada (depois)
Média	619,7	54	1547,0	17,1
Erro Padrão	140,8	7,7	408,3	4,3

A Tabela 3 a seguir expressa os dados estatísticos considerando os valores obtidos da eficiência de desinfecção, ou seja, levando em conta o percentual de redução dos valores em URL antes e após cada protocolo de desinfecção, neste

sentido observou-se que o método usando água ozonizada apresentou melhor desempenho em se comparando com o controle utilizando álcool 70% ( $p < 0,0001$ ).

**Tabela 3.** Dados estatísticos considerando a eficiência de desinfecção, ou seja, o percentual de redução dos valores considerando a escala de desinfecção em URL.

Agente	Álcool 70%	Água Ozonizada
Média	86,5	98,1
Erro Padrão	2,3	0,8

Os resultados referentes a análise microbiológica qualitativa antes do procedimento de higienização local, envolvendo a limpeza e desinfecção, indicaram a presença de microrganismos *cocci* gram-positivos e leveduras, sugerindo a identificação de bactérias e fungos do ambiente.

## 5. DISCUSSÃO

As superfícies como paredes, pisos, equipamentos, móveis e utensílios em geral de ambientes clínicos, acumulam resíduos inorgânicos e orgânicos através de mecanismos como a sedimentação de partículas do ar ambiente, contato de mãos de pessoas que circulam, contaminação por efeitos das atividades respiratórias de pessoal próximo, etc. Neste contexto os procedimentos de limpeza e desinfecção dessas superfícies, em situações corretivas e preventivas são relevantes a fim de evitar e/ou minimizar principalmente a infecção microbiana.

Em geral os materiais orgânicos que depositam em superfícies diversas, apresentam característica de aderência significativa (Adam, 1937), uma parte desse material é composto por microrganismos podendo incluir os patogênicos, nesta situação justifica-se a análise microbiológica qualitativa nas superfícies desses locais, a fim de planejar e executar um protocolo de higienização e minimizar a contaminação e infecção hospitalar.

Procedimentos de higienização das superfícies de ambientes clínicos e cirúrgicos, normalmente abrangem dois estágios que são a limpeza e a desinfecção terminal (Gebel 2013) (Barker 2004) (Casini 2018). Neste contexto, geralmente a primeira etapa envolve o uso de detergentes, pois estes compostos tem a capacidade

de remover o material orgânico aderido sobre a superfície, os efeitos que produzem essa remoção abrangem o químico e o mecânico por cavitação (Bacon 1948; Adam 1937 e Scot 1963). Em geral esse procedimento de limpeza resulta ainda a presença residual de material orgânico, o que significa a constatação de microrganismos sobreviventes presentes dessa primeira etapa de higienização (limpeza) (Mulvey 2011).

A segunda fase é especificada como desinfecção terminal, a qual normalmente é realizada através do uso de produtos químicos como o glutaraldeído, ácido peracético, quaternário de amônia entre outros (Panouillères 2007), esses produtos apresentam boa eficiência, mas demandam providências que acarretam aumento de custo, desde a obediência a regras com o processo de fabricação envolvendo burocracia e fiscalização, até no consumidor final resultando em providências rígidas desde controle de armazenamento, uso obrigatório de Equipamento de Proteção Individual (EPI), e até o controle de descarte para não poluir o meio ambiente.

O gás ozônio é uma substância natural produzida na atmosfera Terrestre pela ação da luz ultravioleta sobre as moléculas de oxigênio presentes no ar, a molécula do gás ozônio é composta por 3 átomos de oxigênio, essa estrutura é instável resultando na formação da molécula de oxigênio mais um íon reativo extremamente oxidante, o qual esse último pode interagir com um microrganismo iniciando o processo de inativação, essa ação fica constatada quando há o acúmulo desse efeito, neste sentido, este mecanismo não resulta na produção de residual químico pernicioso ao meio ambiente, daí seu apelo ambiental.

A água ozonizada pode ser produzida pela diluição do gás  $O_3$  no líquido basicamente através de 2 métodos, o mais comum envolve a difusão do ozônio em água, utilizando material poroso (peça sinterizada) a fim de borbulhar o gás em tamanho de bolhas pequenas, produzindo desta maneira boa eficiência na transferência do gás na água. Outro método bem mais eficiente é protagonizado pelo uso de um circuito hidráulico fechado usando bomba d'água e válvula de 3 vias (Venturi), a qual fazendo a inserção de  $O_3$  na terceira via transversal desta válvula, produzirá uma diluição de  $O_3$  bem mais eficiente. A água ozonizada pode ser utilizada sob diversas situações, dentre elas cita-se seu uso como consumo de bebida comum e até para higiene bucal (Hayakumo 2013; Fonseca 2018), incluindo seu efeito microbicida (Marson 2016; Fonseca 2015; Lopes 2015).

Esse estudo envolveu o uso da água ozonizada para a desinfecção de móvel



clínico, utilizado como porta instrumental para uma atividade cirúrgica de cesariana, esta situação se apresenta vantajosa, uma vez que esse experimento envolve uma situação real e não um teste de experimental de bancada específico em laboratório. O protocolo foi realizado adotando-se duas etapas de higienização, a primeira foi executada usando uma substância a base de detergente, pois esse agente devido a sua capacidade de remoção do filme orgânico sobre a superfície, garante a retirada de maior parte desse material. Como segunda etapa notabilizada como desinfecção terminal, adotou-se a água ozonizada como agente de estudo e o álcool 70% como referência em termos de comparação.

Para a avaliação do grau de deposição de ATP foi adotado o método de bioluminescência, esse é notabilizado como um processo em tempo real, ou seja, o resultado é obtido logo após o contato da sonda com a superfície de análise, e sua introdução no instrumento de leitura, o qual já disponibiliza a medida denominada Unidade Relativa de Luz, essa escala representa sob forma indireta a grau de desinfecção presente na superfície que foi sondada. Neste sentido, o material ATP coletado em que parte deste é de proveniência de microrganismo, é convertido em luz pelo método de bioluminescência, em que no sistema instrumental há um aparato de medida optoeletrônica, o qual disponibiliza o resultado em URL. Cada instrumento desse proveniente de um fabricante, apresenta características diferentes em termos de construção hardware e implementação software, o que resulta em diferentes resultados de calibração, por isso não há homogeneidade na classificação do grau de desinfecção da superfície baseado na escala URL (Zhao 2013).

Neste estudo foi utilizado o equipamento da marca Hygiena modelo Ensure Plus, esse instrumento de medição disponibiliza na escala URL, o grau de desinfecção de uma superfície sondada com “swab” específico compatível ao aparelho citado anteriormente. Estudos relatados envolvendo o uso desse sistema, mostraram que para uma superfície estar devidamente desinfectada em âmbito clínico, o valor de medida não deverá ultrapassar 100URL, considerando a sondagem de uma superfície de área 100 cm<sup>2</sup> (Willis 2007; Andersen 2009; Mulvey 2010).

Como pode ser verificado na tabela 1, os resultados mostrados de desinfecção realizados pelo binômio Detergente/Água Ozonizada, evidenciou maior eficiência em comparação com o par Detergente/Álcool 70%, de fato, observado os dados, todos os 20 testes realizados envolvendo o binômio já mencionado, apresentaram resultados com valores menores do que a referência limite de 100URL, já considerando o par

controle de desinfecção (detergente/álcool), praticamente 4 testes mostraram superfície ainda não convenientemente higienizada para ambiente clínico.

Alguns estudos envolvendo a caracterização de limpeza de uma superfície de ambiente clínico hospitalar, utilizando a análise pelo método da bioluminescência, realizaram também a avaliação microbiológica tradicional abordando em termos quantitativos, especificamente realizaram análises culminando com resultados em termos de Contagem de Colônia Aeróbica (CCA, "Aerobic Colony Count, ACC"), para isso um meio de cultura específico é preparado, e posto em contato com a superfície alvo, aplicando uma força por um determinado tempo, logo após esse meio é armazenado em estufa a 30°C durante 24 e 48 horas, para posterior contagem das colônias. Neste sentido, um estudo utilizando especificamente o equipamento Hygiena com as devidas sondas "swabs" compatíveis, indicaram um resultado de um pobre coeficiente de correlação entre as escalas URL e CCA ( $\sim 0,15$ ) (Willis, 2007).

Este estudo envolvendo o uso da água ozonizada como agente desinfetante de superfícies metálicas, pertencentes a ambientes clínicos, mostrou resultados pelo método de bioluminescência mais eficiente em comparação com o de referência álcool 70%, o qual é corriqueiramente usado em alguns estabelecimentos de atendimento a saúde. Uma das vantagens de se utilizar água ozonizada é de que esse agente não acarreta consequências perniciosas ao meio ambiente, nem tão pouco requer controles diversos em se tratando de fiscalização e procedimentos de segurança e controles na fabricação, armazenamento e uso. Neste sentido em se considerando a área de engenharia, a expectativa é de desenvolver um equipamento estabelecido em ambiente clínico, a qual permita a ozonização da água até atingir um valor específico de concentração, durante esse processo, o próprio sistema processará e descartará o gás ozônio excedente para o meio ambiente externo de maneira adequada. Após esse procedimento, o próprio usuário encarregado de realizar a higienização das superfícies, fará a coleta da água ozonizada em recipiente com proteção térmica, e também com o dispositivo para realizar a ação de pulverização sobre a superfície, permitindo a formação de uma película líquida homogênea, a fim de produzir principalmente a inativação dos microrganismos.

## 6. CONCLUSÃO

A metodologia de desinfecção de superfície metálica de aço inoxidável, pertencente a uma mesa de instrumentação para fins cirúrgicos, utilizando a água ozonizada como desinfecção terminal, se apresentou ser eficiente em termos de disponibilizar o local adequadamente higienizado para uso clínico, neste sentido a técnica de bioluminescência mostrou em todos os 20 testes realizados, valores abaixo de 100 URL.

O instrumento luminômetro da marca Higiene o qual atua através da bioluminescência, para indicar o grau de higienização de uma superfície, mostrou que o agente desinfetante álcool 70%, apresentou valores em URL onde dos 20 testes realizados, 4 apresentaram resultados não adequados, ou seja, acima ou muito próximos do limite de 100URL (27%), demandando desta forma a repetição no procedimento de higienização.

Em termos de desempenho de desinfecção a água ozonizada comparada ao agente álcool 70%, apresentou maior eficácia em termos de desinfecção de superfície metálica, pertencente a uma mesa de instrumentação para fins de práticas cirúrgicas.

## 7. REFERÊNCIAS

Adam N.K.. Detergent action and its relation to wetting and emulsification. The Journal of the Society of dyers and colourists, Proceedings of the Society. 1937; 53(4): 1-11.

Andersen B.M., Rasch M., Kvist J, Tollefsen T., Lukkassen R., Snadvik L., Welo A. Floor cleaning effect on bacteria and organic materials in hospital rooms. J. Hosp. Infect. 2009; 71:57-65.

Armbruster CR, Lee CK, Parker-Gilham J et al. Heterogeneity in surface sensing suggests a division of labor in *Pseudomonas aeruginosa* populations Elife. 2019; 8: e45084.

BA Scot. Mechanism of fatty soil removal. Journal of Applied Chemistry. 1963; 13(3): 133-144.

Barker J, Vipond IB, Bloomfield SF. Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of Norovirus contamination via environmental surfaces. J Hosp Infect. 2004; 58: 42-49.

Belas R. Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria. Trends Microbiol. 2014; 22: 517-27.

Bialoszewski D, Pietruczuk-Padzik A, Kalicinska A, et al. Activity of ozonated water and ozone against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Med Sci Monit. 2011;17(11):339-44.

Bocci V. Ozone: A New Medical Drug. Londres: Springer, 2011.

Boyce J.M., Havill N.L., Dumigan D.G., Golebiewski M., Balogun O., Rizvani R.. Monitoring the effectiveness of hospital cleaning practices by use of an adenosine triphosphate bioluminescence assay. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2009, 30: 678-684

Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016; 5:10.

Breidablik HJ, Lysebo DE, Johannessen L, Skare Å, Andersen JR, Kleiven OT. Ozonized water as an alternative to alcohol-based hand disinfection. *J. Hosp Infect*. 2019 Aug;102(4):419-24.

Carvalho H.C., Melo M.S., Lima C.J., Alves L.P., Silveira L. Jr., Zângaro R.A.. Effectiveness of ozone-liquid mass transfer aiming ozone therapy, Springer International Publishing Switzerland 2015, World Congress On Medical Physics and Biomedical Engineering. DOI: 10.1007/978-3-319-19387-8\_311.

Casini B., Tuvo B., Totaro M., Aquino F., Baggiani A., Privitera G.. Evaluation of cleaning procedure efficacy in prevention of nosocomial infections in healthcare facilities using cultural method associated with high sensitivity luminometer for ATP detection. *Pathogens*. 2018, 7 (71): 1-9. DOI: 10.3390/pathogens7030071.

Chayb EF. Kozusny-Andreani DI. Estudo comparativo da contaminação por micro-organismos patogênicos em resíduos domiciliares e de saúde em Uberlândia (MG). *Revista Brasileira Ciências Ambientais*, Rio de Janeiro, 2015, 37(1): 121-30

Centurión MPB et al. Enzymatic detergents and medical devices. *Vigil.sanit. debate* 2019;7(1):33-41.

Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *ClinMicrobiol Rev*. 2014;27(4):665-90.

Deboosere N, Pinon A, Caudrelier Y, Delobel A, Merle G, Perelle S, Temmam S, Loutreul J, Morin T, Estienney M, Belliot G, Pothier P, Gantzer C, Vialette M. Adhesion of human pathogenic enteric viruses and surrogate viruses to inert and vegetal food surfaces. *Food Microbiol*. 2012, 32(1):48-56.

Emily L. Marron, Carsten Prasse, Jean Van Buren, David L. Sedlak. Formation and Fate of Carbonyls in Potable Water Reuse Systems. *Environmental Science & Technology* 2020, 54 (17):10895-903.

Ferreira WFS, Alencar ER, Alves H, Ribeiro JL, Silva CR. Influence of pH on the efficacy of ozonated water to control microorganisms and its effect on the quality of stored strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Ciência e Agrotecnologia*, 2017, 41(6), 692-700.

Fonseca PMM, Sá Júnior PL, Miyakawa W, Damião AJ, Silva Melo LHM, Zângaro RA, Fernandes AB, De Lima CJ. Analysis of Damage on the *Streptococcus mutans* Immersed in Ozonated Water: Preliminary Study for Application as Mouth Rinse. *Ozone: Science & Engineering*. DOI: 10.1080/01919512.2018.1524285

Fonseca PMM, Feitosa LS, Fernandes AB, Zângaro RA, Miyakawa W, de Lima CJ. Disinfection of Dental Instruments Contaminated with *Streptococcus mutans* Using Ozonated Water Alone or Combined with Ultrasound. *Ozone: Science & Engineering*, DOI: 10.1080/01919512.2014.904740

Fontana RT. As infecções hospitalares e a evolução histórica das infecções. *Rev. bras. enferm.* 2016; 59(5):703-6.

Frota OP, Ferreira AM, Guerra OG, Rigotti MA, Andrade D, Borges NMA, Almeida MTG. Efficiency of cleaning and disinfection of surfaces: correlation between assessment methods. *Rev Bras Enferm* [Internet]. 2017;70(6):1176-83.

Gebel J, Exner M, French G, *et al.* The role of surface disinfection in infection prevention. *GMS Hygiene and Infection Control*. 2013; 8(1): 1-12.

Giarola LB, Baratieri T, Costa AM, Bedendo J, Marcon SS, Waidman MAP. Infecção hospitalar na perspectiva dos profissionais de enfermagem: um estudo bibliográfico. *Cogitare Enferm.* 2012, 17(1): 151-7.

Grumadas CES, Raiser AG, Paiva MGS, Wouk AFF, Albuquerque AJD, Souza

FP et al. Comparação entre dois métodos de escovação para antissepsia das mãos dos componentes da equipe cirúrgica. *Cienc. Rural*. 2011, 21(3): 379-91.

Guimarães AC, Donalísio R, Santiago AHR, Parreiros F. Óbitos associados à infecção hospitalar, ocorridos em um hospital geral de Sumaré-SP, Brasil. *Rev Bras Enferm*, 2015, 64(5):864-9.

Hayakumo S, Arakawa S, Mano Y, Izumi Y. 2013. Clinical and microbiological effects of ozone nano-bubble water irrigation as an adjunct to mechanical subgingival debridement in periodontitis patients in a randomized controlled trials. *Clin Oral Invest*, 17: 379-388. DOI: 10.1007/s00784-012-0711-7.

Higienda. Directions for Use SnapShot Universal ATP Test, 2014. Disponível em: <http://www.testkitcentral.com/Snapshot-Universal-ATP-Swabs-Prodview.html>. Acesso em 09 abr. 2021.

Hyun J, Lee SG, Hwang J. Application of corona discharge-generated air ions for filtration of aerosolized virus and inactivation of filtered virus. *J Aerosol Sci*. 2017;107:31-40.

Leeuwen J van. Proposed OS&E Requirement: Measuring Ozone Dosage, Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association, 2015, 37(2):191-2.

Lewis T., Griffith C., Gallo M. Weinbren M.. A modified ATP benchmark for evaluating the cleaning of some hospital environmental surfaces. *Journal Hospital Infection*. 2008, 69: 156-163.

Lin H, Zhang S, Zhang S, Lin W, Yu X. The function of advanced treatment process in a drinking water treatment plant with organic matter-polluted source water. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017 Apr;24(10):8924-32.

Li Q, Yu S, Li L, et al. Microbial Communities Shaped by Treatment Processes

in a Drinking Water Treatment Plant and Their Contribution and Threat to Drinking Water Safety. *Front Microbiol.* 2017;8:2465.

Lopes MS, Ferreira JRF, Silva KB, Simplício IOB, De Lima CJ, Fernandes AB. Disinfection of corrugated tubing by ozone and ultrasound in mechanically ventilated tracheostomized patients. *Journal of Hospital Infection.* . Fernandes). Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com) *Journal of Hospital Infection* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2015.03.004>

Marson LF et al. Use of Ozonated Water for Disinfecting Gastrointestinal Endoscopes, *Ozone: Science & Engineering*, 2016, 38(5): 346-51,

Martinelli M et al. Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Roma*, 2017, 58(1): E48-E52.

Meunier L, Canonica S, von Gunten U. Implications of sequential use of UV and ozone for drinking water quality. *Water Res.* 2006;40(9):1864-76.

Mulvey D., Redding P., Robertson C., *et al.* Finding a benchmark for monitoring hospital cleanliness. 2011. *Journal of Hospital Infection*, 77(1): 25-30.

Nante N, Ceriale E, Messina G, Lenzi D, Manzi P. Effectiveness of ATP bioluminescence to assess hospital cleaning: a review. *J Prev Med Hyg.* 2017 Jun;58(2):E177-E183.

Oliveira AC, Mati ML. Indicações e limitações dos diferentes detergentes utilizados no processamento de produtos para a saúde. *Rev. SOBECC*, 2017; 22(2): 106-14.

Oliveira AC, Damasceno QS. Superfícies do ambiente hospitalar como possíveis reservatórios de bactérias resistentes: uma revisão. *Rev. esc. enferm. USP.* 2011, 44(4):1118-23.



Park JS, Sung BJ, Yoon KS, Jeong CS. The bactericidal effect of an ionizer under low concentration of ozone. *BMC Microbiol.* 2016;16(1):173.

Pires CW, Fraga S, Beck ACO, Braun KO, Peres PEC. Chemical methods for cleaning conventional dentures: what is the best antimicrobial option? An *in vitro* study. *Oral Health Prev Dent.* 2017;15(1):73-77.

Rutala WA, Weber DJ. Disinfection, Sterilization, and Control of Hospital Waste. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2015;3294-309.e4.

Sanna T, Dallolio L, Raggi A. et al. ATP bioluminescence assay for evaluating cleaning practices in operating theatres: applicability and limitations. *BMC Infect Dis.* 18(1): 583-9, 2018.

Scot BA. Mechanism of fatty soil removal. *Journal of Applied Chemistry.* 1963; 13(3): 133-144.

Shah N., Naseby D.C.. Validation of constitutively expressed bioluminescent *Pseudomonas aeruginosa* as a rapid microbiological quantification tool. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2015.01.008>

Silva, LM, Jardim WF. Trends and strategies of ozone application in environmental problems. *Química Nova*, 2006, 29(2), 310-7.

Singh M, Sharma R, Gupta PK, Rana JK, Sharma M, Taneja N. Comparative efficacy evaluation of disinfectants routinely used in hospital practice: India. *Indian J Crit Care Med.* 2012;16(3):123-129.

Zhang Y, Oh S, Liu WT. Impact of drinking water treatment and distribution on the microbiome continuum: an ecological disturbance's perspective. *Environ Microbiol.* 2017 Aug;19(8):3163-74.

Zhao H., Su J., Liu X.Y., Li S. H. Research on feasibility of ATP bioluminescence

method in monitoring contamination of object surface. *Chi. J. Nosocomiol.* 2013; 23: 956-958.

Wallace CA. New developments in disinfection and sterilization. *Am J Infect Control.* 2016;44(Suppl):e23–e27.

Willis C., Morley R., Westbury J., Greenwood M., Pallett A. Evaluation of ATP bioluminescence swabbing as a monitoring and training tool for effective hospital cleaning. *Br. J. Infect. Contr.* 2007; 8: 17-21

Uribe-Salgado LG, Moguel-Parra G, Perez-Robles V.M, Santos-Preciado JI. Aplicación de la Cédula de Verificación para la Prevención y Control de Infecciones Nosocomiales en unidades pediátricas de cuidados intensivos. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 2016, 63(2):76-83.

Liu X et al. Evaluation of different detector types in measurement of ATP bioluminescence compared to colony counting method for measuring bacterial burden of hospital surfaces. *PLoS ONE*, 2019; 14(9): e0221665.

Yoo JH. Review of Disinfection and Sterilization - Back to the Basics *Infect Chemother.* 2018;50(2):101-109.

## **ANEXO**

### **Manual do Equipamento Ozônio**

#### **INTRODUÇÃO**

O Ozônio ( $O_3$ ) é um gás reativo e instável, cuja recombinação ocorre rapidamente retornando ao estado de oxigênio ( $O_2$ ). É um oxidante natural e germicida, conferindo inúmeras possibilidades de aplicações.<sup>1</sup>

As indicações terapêuticas para o uso de Ozônio são fundamentadas no conhecimento do desempenho em funções celulares importantes, com mecanismo de ação em mecanismos celulares importantes<sup>3</sup>. De acordo com a concentração escolhida o Ozônio pode produzir modulação imunológica, antiinflamatória, bactericida, virucida, fungicida, analgésica entre outros efeitos<sup>2</sup>.

#### **ESPECIFICAÇÕES DO EQUIPAMENTO**

O gerador produz ozônio medicinal a partir de um cilindro de Oxigênio puro (99,5%) com certificado médico, de acordo com as Diretrizes e Recomendações para Planejamento de Gerador de Ozônio aprovado pela ISCO3 de 11 de julho de 2014<sup>4</sup>. A tubulação externa e interna e todas as conexões são de material resistente ao ozônio (aço inoxidável, silicone) não sendo utilizados conexões de borracha, lates ou poliuretano.

O equipamento utilizado possibilita a geração de uma mistura terapêutica, homogênea de oxigênio-ozônio com concentração que varia entre 41 a 49mg/L. Os quadros 01 e 02 apresentam as especificações do equipamento segundo fabricante. A figura 01 ilustra o sistema de acordo com as especificações de uso.

Quadro 1: Especificações Gerador Ozônio OZON LIFE

Item	Determinação
Modelo	MS3G
Alimentação	220 V
Potência	50 W / 60 Hz
Dimensões	26 x 19 x 09 cm
Produção Ozônio	3 g / h

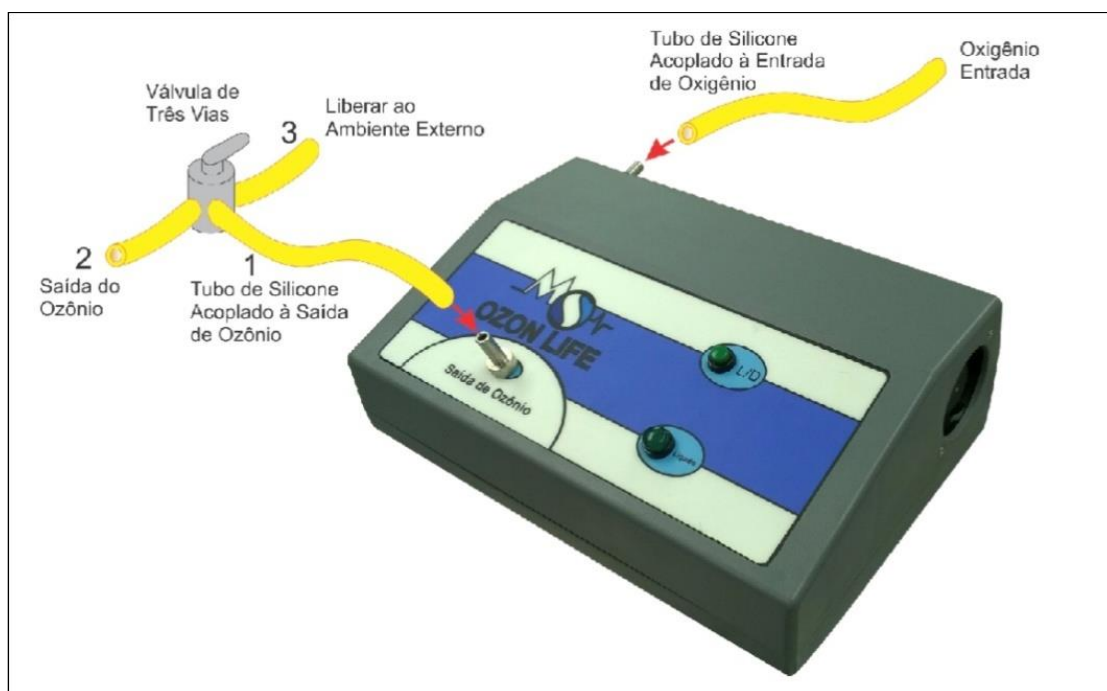
Quadro 2: Concentrações - Gerador Ozônio OZON LIFE

Vazão O <sup>2</sup> (L/min)	Concentração fornecida O <sup>3</sup> (mg/l)
1/8	41
¼	48
½	49
¾	46
1	43

Quadro 1: Instruções de Instalação: Gerador de Ozônio OZON LIFE

1. Acoplar a mangueira de saída do regulador de O<sup>2</sup> medicinal á entrada de O<sup>2</sup> do gerador – Fig. 01
2. A válvula reguladora de fluxo de O<sup>2</sup> deve ser acoplada a um cilindro de Oxigênio medicinal
3. A válvula da cabeça do cilindro de oxigênio deverá estar fechada (girar no sentido horário) e o regulador na posição zero.
4. Ajustar a vazão de oxigênio (L/min) e abrir a válvula.
5. Acionar o botão liga/desliga (L/D) localizado no painel do gerador de ozônio. A produção de gás é imediata.
6. Para conduzir o gás a um determinado ponto deve ser conectada uma mangueira de silicone á saída de ozônio (2) com 4 mm de diâmetro interno

7. Coletar a quantidade (cc ou mililitros) de gás  $O^2 + O^3$  prevista no Protocolo, colocando a ponteira da seringa siliconizada na mangueira de saída da válvula de três vias (*tri-way*) (2)
8. Para desligar o equipamento acionar o botão liga/desliga (L/D) do painel



Gerador de ozônio, evidenciando entrada de oxigênio e saída de ozônio através de válvula de três vias (1 – conectada saída do equipamento, 2 – saída de ozônio, 3 –exaustão).

## MEDIDAS DE SEGURANÇA

Por ser volátil o Ozônio em altas concentrações pode afetar o sistema respiratório determinando efeitos colaterais o que não ocorre em baixas concentrações e por período curto de tempo.

Sistema de exaustão de gases (equipamento de proteção coletiva): finalidade de dissipar ozônio no momento de manipulação.